



FACULTAD DE QUÍMICA

GRADO EN QUÍMICA

Trabajo de Fin de Grado

NANOTUBOS PEPTÍDICOS EN MEMBRANAS
LIPÍDICAS: UN ESTUDIO COMPUTACIONAL A
TRAVÉS DE SIMULACIONES DE DINÁMICA
MOLECULAR

Autor:

Daniel Conde Torres

Titor:

Rebeca García Fandiño

*Centro Singular de Investigación en Química Biológica y Materiales
y Moleculares (CiQUS), Departamento de Química Orgánica, USC*

Cotitor:

Martín Calvelo

*Centro Singular de Investigación en Química Biológica y Materiales
y Moleculares (CiQUS), Departamento de Química Orgánica, USC*

Junio 2021

Departamento de Química Orgánica y Centro Singular de Investigaciones en Química Biológica y Materiales Moleculares (CiQUS)

Dña. REBECA GARCÍA FANDIÑO, INVESTIGADORA "RAMÓN Y CAJAL" DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA Y D. MARTÍN CALVELO SOUTO, INVESTIGADOR POST-DOCTORAL DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

INFORMAN: Que la memoria adjunta titulada "*Nanotubos peptídicos en membranas lipídicas: un estudio computacional a través de simulaciones de Dinámica molecular*" que presenta Daniel Conde Torres para su Trabajo de Fin de Grado (TFG) ha sido realizada bajo nuestra dirección en el CiQUS y autorizamos su presentación.

Y para que así conste, expedimos la presente autorización en Santiago de Compostela a 02 de Julio de 2021.



Fdo. Dra. Rebeca García Fandiño



Fdo: D. Martín Calvelo Souto

Resumen

Los nanotubos formados por el autoensamblaje de ciclopéptidos que alternan aminoácidos D y L en su secuencia han atraído un gran interés debido a su potencial para ser empleados en nuevas aplicaciones nanotecnológicas y biomédicas. Las simulaciones de Dinámica Molecular (MD) se pueden utilizar para caracterizar estos sistemas con resolución atomística a diferentes escalas de tiempo, proporcionando información difícilmente accesible a través de experimentos en laboratorios. Sin embargo, los resultados de las simulaciones de MD con los distintos campos de fuerzas clásicos, típicamente empleados en las simulaciones de proteínas y péptidos lineales, nunca se han comparado para este tipo de péptidos cíclicos. En este trabajo se han empleado cuatro campos de fuerzas diferentes (AMBER, CHARMM, OPLS y GROMOS), para simular un sistema que consta de un nanotubo formado por ocho D,L - α -ciclopéptidos insertados en una bicapa lipídica como modelo. Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas en la cavidad pseudo-cilíndrica formada por el nanotubo, siendo las más importantes el diámetro del nanoporo, el número y ubicación de las moléculas de agua confinadas en su interior y, por tanto, en la distribución de densidad de las moléculas de disolvente del interior del canal. Los resultados de este trabajo han sido incluidos en la siguiente publicación: D. Conde, Pablo F. Garrido, M. Calvelo, Á. Piñeiro, R. Garcia-Fandino, "Molecular dynamics simulations of transmembrane cyclic peptide nanotubes using classical force fields, Hydrogen Mass Repartitioning and Hydrogen Isotope Exchange methods: a critical comparison", enviado a *J. Chem. Theory Comput.* (2021).

Resumo

Os nanotubos formados pola autoensamblaxe de ciclopéptidos alternando aminoácidos D e L na súa secuencia atraeron gran interese debido ao seu potencial para usarse en novas aplicacións nanotecnolóxicas e biomédicas. As simulacións de Dinámica Molecular (MD) pódense usar para caracterizar estes sistemas con resolución atomística a diferentes escalas de tempo, proporcionando información de difícil acceso a través de experimentos de laboratorio. Non obstante, os resultados das simulacións de MD cos diferentes campos de forza clásicos, normalmente empregados nas simulacións de proteínas lineais e péptidos, nunca se compararon para este tipo

de péptidos cíclicos. Neste traballo, utilizáronse catro campos de forzas diferentes (AMBER, CHARMM, OPLS e GROMOS) para simular un sistema formado por un nanotubo composto por oito D,L - α -ciclopéptidos inseridos nunha bicapa lipídica como modelo. Os resultados obtidos mostran diferenzas significativas na cavidade pseudo-cilíndrica formada polo nanotubo, sendo o máis importante o diámetro do nanoporo, o número e a localización das moléculas de auga confinadas dentro deste e, polo tanto, na distribución da densidade do disolvente no interior da canle. Os resultados deste traballo foron incluídos na seguinte publicación: D. Conde, Pablo F. Garrido, M. Calvelo, Á. Piñeiro, R. Garcia-Fandino, "Molecular dynamics simulations of transmembrane cyclic peptide nanotubes using classical force fields, Hydrogen Mass Repartitioning and Hydrogen Isotope Exchange methods: a critical comparison", enviado a *J. Chem. Theory Comput.* (2021).

Abstract

Self-assembled cyclopeptide nanotubes with alternating D - and L -amino acid residues in the sequence of each subunit have attracted a great deal of attention due to their potential for new nanotechnology and biomedical applications. Molecular Dynamics (MD) simulations can be used to characterize these systems with atomic resolution at different time scales, providing information that is hardly accessible by wet lab experiments. However, the performance of classical force fields typically employed in the simulation of biomolecules has not been extensively tested with this kind of highly constrained peptides, with small cyclic structures. Four different classical force fields (AMBER, CHARMM, OPLS and GROMOS), using a nanotube formed by eight D,L - α -cyclopeptides inserted into a lipid bilayer as a model system, are employed here to fill this gap. Significant differences in the pseudo-cylindrical cavity formed by the nanotube were observed, the most important being the diameter of the nanopore, the number and location of confined water molecules and so in the density distribution of the solvent molecules. The results from this work have been included in the following publication: D. Conde, Pablo F. Garrido, M. Calvelo, Á. Piñeiro, R. Garcia-Fandino, "Molecular dynamics simulations of transmembrane cyclic peptide nanotubes using classical force fields, Hydrogen Mass Repartitioning and Hydrogen Isotope Exchange methods: a critical comparison", sent to *J. Chem. Theory Comput.* (2021).

Índice

Abreviaturas	5
1. Introducción.	6
1.1. Ciclopéptidos y nanotubos peptídicos.	7
1.2. Dinámica Molecular.	10
2. Objetivos.	16
3. Materiales y métodos.	17
4. Resultados y discusión.	19
4.1. Influencia del campo de fuerzas en la estabilidad estructural del <i>D,L</i> - α -SCPN.	19
4.1.1. Root-mean-squared-deviation (RMSD).	20
4.1.2. Root-mean-square-fluctuation (RMSF).	21
4.1.3. Posición media y desviación estándar de los $C\alpha$ por ciclopéptido.	23
4.1.4. Ángulo entre los $C\alpha$ del CP y su proyección en el plano.	26
4.1.5. Distancias entre centros de masas de los CPs.	27
4.1.6. Enlaces de hidrógeno entre CPs.	29
4.2. Influencia del campo de fuerzas en las propiedades del poro del <i>D,L</i> - α -SCPN.	31
4.2.1. Radio interior del poro creado por el SCPN.	31
4.2.2. Distribución de las moléculas de agua en el interior del nanotubo.	32

4.3. Influencia del campo de fuerzas en las propiedades de difusión del D,L - α -SCPN.	35
4.3.1. Inclinação del nanotubo en la membrana (<i>tilt</i>).	36
4.3.2. Perfiles de difusión lateral.	38
5. Conclusiones.	40
6. Bibliografía	43
A. Anexo: Ciencia por amor al arte.	49

Abreviaturas

AA: All-atoms.

AMBER: Assisted Model Building with Energy Refinement.

c.g: centro geométrico.

CESGA: Centro de Supercomputación de Galicia.

CHAP: Channel Annotation Package

CHARMM: Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics

CP: Ciclopéptido

GROMACS: GRoningen MACHine for Chemical Simulations.

GROMOS: GRoningen MOlecular Simulation.

MD: Dinámica molecular.

NPT: Isothermal–isobaric ensemble.

OPLS: Optimized Potentials for Liquid Simulations.

PBC: Periodic Boundary Conditions.

PME: Particle mesh Ewald.

POPC: 1-palmitoil-2-oleoil-glycero-3-fosfocolina

RMSD: Root-mean-squared-deviation

RMSF: Root mean square fluctuation.

SCPN: Self-assembled cyclic peptide nanotube.

SPC: simple point-charge.

TIP3P: Transferable intermolecular potential functions three points.

TIP4P: Transferable intermolecular potential functions four points.

UA: United-atoms.

VMD: Visual Molecular Dynamics.

1. Introducción.

En 1977, en la universidad de Harvard, Andrew McCammon y Martin Karplus realizaron la primera simulación de Dinámica Molecular (MD) a nivel atómico de una proteína.¹ A pesar de las limitaciones tanto en el tamaño del sistema (~ 500 átomos) como en el escaso tiempo de simulación (~ 9.2 ps) los resultados obtenidos en este pionero estudio mostraron fluctuaciones en los movimientos de los átomos, permitiendo romper con la visión clásica de las proteínas como estructuras rígidas. Desde entonces la MD ha avanzado desde la simulación de varios cientos de átomos a sistemas con relevancia biológica, incluyendo proteínas completas en disolución con representaciones explícitas de disolventes, proteínas incrustadas en la membrana o grandes complejos macromoleculares como nucleosomas o ribosomas.² Dado el gran tamaño de los sistemas, fue necesario mejorar tanto los algoritmos como el hardware, aumentando de esta forma la velocidad de cálculo y generando un asombroso impacto en todos los sectores de la sociedad. Las simulaciones computacionales se emplean para explorar fenómenos experimentales inaccesibles y proporcionar, a su vez, una alternativa a la realización de experimentos en laboratorios, que pueden tener como principales inconvenientes costes, peligros o el tiempo de realización.

Actualmente, las simulaciones de MD con resolución atómica permiten estudiar sistemas de 10^6 átomos durante cientos de ns con un coste computacional razonablemente bajo,³ debido a los avances tecnológicos que permiten acceder a múltiples procesadores de forma simultánea. El tiempo de simulación de sistemas biomoleculares aumenta en 10^3 cada década, siendo este progreso más rápido que el sugerido por la ley de Moore.⁴ Se predice que las simulaciones biomoleculares continuarán creciendo de forma exponencial, permitiendo indagar cada vez más en los sistemas biomoleculares para intentar resolver los secretos de la vida.³

En sistemas biológicos, las simulaciones pueden emplearse para obtener información acerca del diseño de fármacos, prediciendo estructuras de proteínas o la estabilidad de determinados compuestos según las condiciones a las que se hallen expuestos. Asimismo, también es posible ofrecer descripciones a nivel atómico para la comprensión de los

sistemas de interés, concluyendo en la innegabilidad del potencial que albergan las simulaciones computacionales de los sistemas biomoleculares. No obstante, no se puede garantizar que los resultados sean realistas, pues la precisión de una simulación molecular depende del grado de muestreo⁵ logrado, mientras que la precisión de los resultados depende de la descripción satisfactoria de las interacciones intramoleculares e intermoleculares en el sistema, es decir, el campo de fuerzas; formándose una sinergia con los experimentos realizados en laboratorio pues influyen mutuamente en la validación el uno del otro.

1.1. Ciclopéptidos y nanotubos peptídicos.

Uno de los sistemas biomiméticos más novedosos de los últimos años son los nanotubos formados por ciclopéptidos autoensamblados (SCPN, por sus siglas en inglés, *Self-assembling Cyclic Peptide Nanotubes*).⁶ Estas nanoestructuras se consideran uno de los componentes básicos más intrigantes empleados en nanotecnología, atrayendo el interés de la comunidad científica debido a su facilidad para modificar su estructura interna y externa, y por tanto también sus propiedades. Entre sus posibles aplicaciones está el uso en dispositivos electrónicos, materiales fotosensibles, biosensores, agentes antimicrobianos y antivirales, canales de transporte transmembrana selectivos, catálisis o administración de fármacos.^{7,8}

Los primeros SCPNs fueron propuestos de manera teórica en 1974,⁹ sin embargo, su síntesis no se realizó hasta el año 1993.⁶ Estos SCPNs estaban formados por *D,L*- α -aminoácidos, los cuales adoptan una conformación plana, con los grupos NH y CO perpendiculares al plano de los ciclopéptidos (CP). Esto permite la formación de enlaces de hidrógeno entre unidades de CP adyacentes, dando lugar a una red de interacciones de este tipo que le confieren una alta estabilidad a la estructura nanotubular (**Fig.1**).^{9,10}

Una importante ventaja de estas nanoestructuras es la facilidad con la que se pueden modificar sus propiedades, tanto internas como externas. Por un lado, el diámetro interno del SCPN está controlado por el número de residuos que constituyen los CPs y, por su parte, las propiedades de la superficie externa dependen de las cadenas laterales de los aminoácidos, que quedan orientadas hacia el exterior. Se ha propuesto que aquellos CPs

1.1 Ciclopéptidos y nanotubos peptídicos.

que contienen secuencias hidrófobas pueden ser empleados como canales transmembrana, replicando funciones específicas de los sistemas de transporte naturales en términos de afinidad, eficiencia, estabilidad y selectividad.^{7,8,11–15}

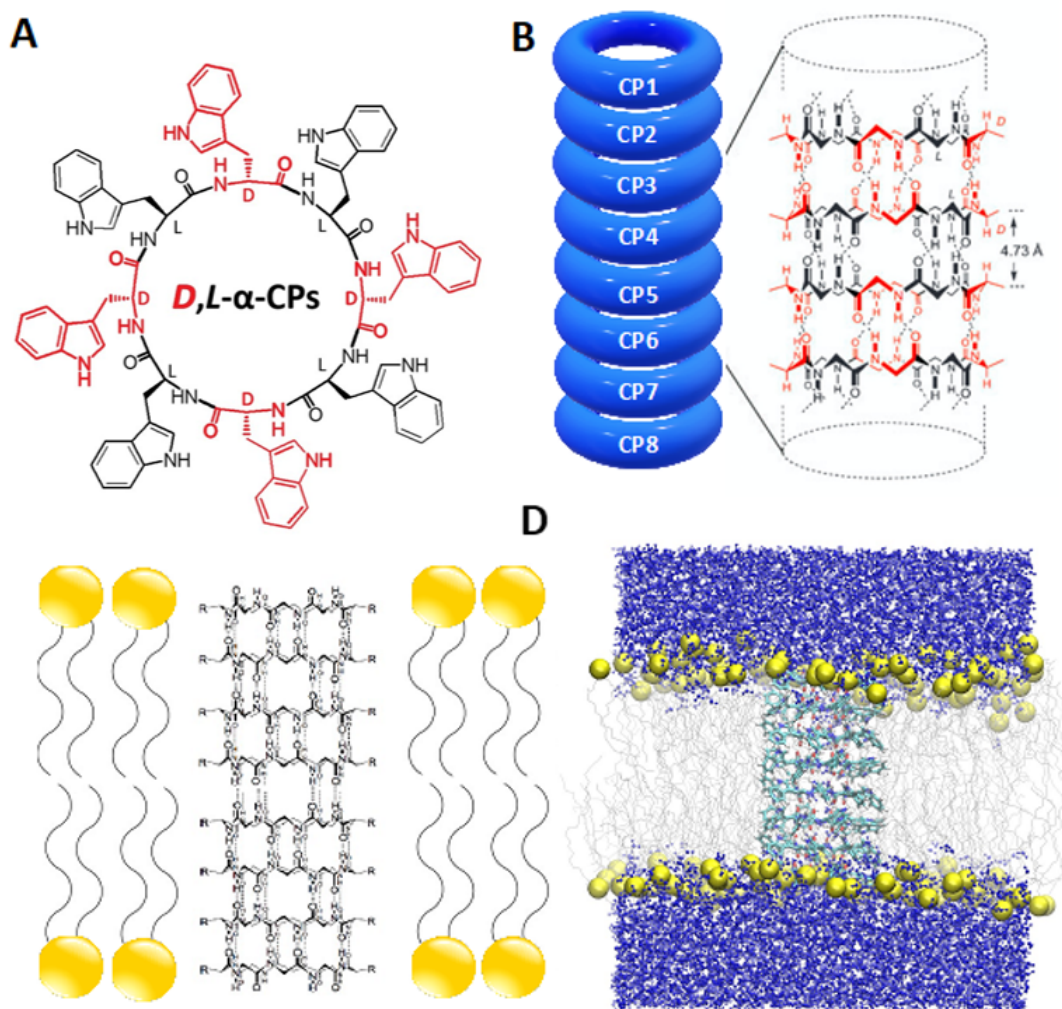


Figura 1: **A.** Estructura del *D,L*-α-CP empleado en este estudio. **B.** Disposición antiparalela de los CPs en un SCPN, en donde están señaladas las interacciones entre aminoácidos *D-D* y *L-L*. **C.** Modelo en 2D del nanotubo insertado en la membrana. **D.** Estructura inicial de la simulación de MD. Las esferas amarillas corresponden a los fósforos de los lípidos de la membrana.

Los conductos transmembrana formados por estas estructuras son capaces de transportar iones como Na^+ y K^+ ,¹⁴ y, en el caso de nanotubos que contienen CPs con un diámetro interno superior a 9\AA , son capaces de conducir glucosa.¹⁶ En estudios posteriores se ha comprobado que SCPNs con una secuencia de CPs de carácter anfipático adquirirían una disposición paralela (respecto al plano de la membrana) al insertarse en bicapas lipídicas,

exhibiendo actividad antibacteriana (**Fig.2**).¹⁷

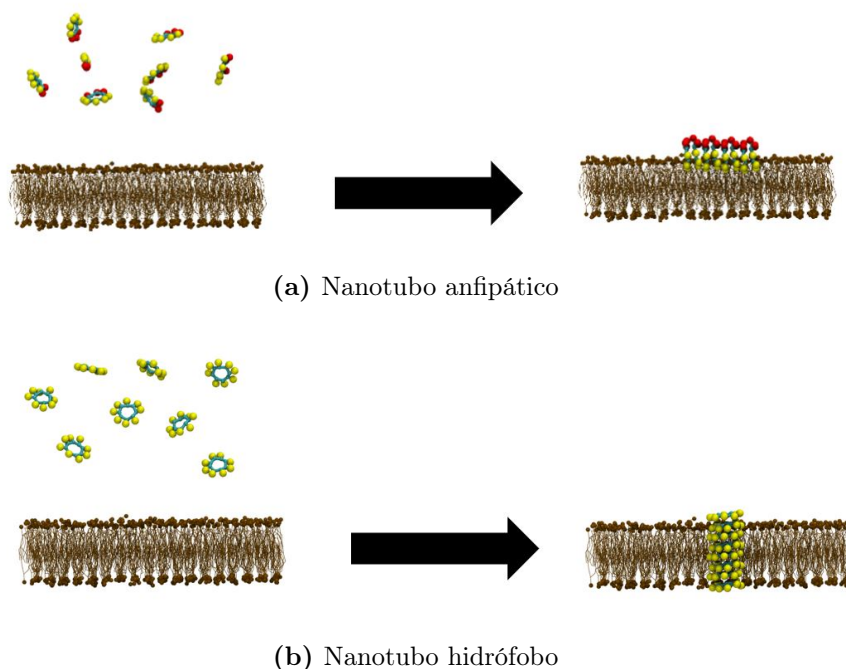


Figura 2: Disposición del SCPN en la bicapa lipídica según su carácter hidrófobo o anfipático.

Las simulaciones de MD han jugado un papel fundamental en la descripción y caracterización de los SCPNs.¹⁸ Ofrecen una oportunidad única para caracterizar dichos sistemas en escala atómica, ayudando a entender sus mecanismos de acción a escalas espaciales y temporales que son difíciles de observar experimentalmente, funcionando así como un microscopio computacional. Uno de los factores más importantes en la fiabilidad de las simulaciones de MD es la precisión del campo de fuerzas utilizado para describir cada una de las moléculas y las interacciones entre ellas dentro del sistema estudiado. Durante las últimas décadas, se han desarrollado y utilizado ampliamente una serie de campos de fuerza, como AMBER, CHARMM, OPLS-AA/L, GROMOS e incluso otros nuevos basados en aprendizaje automático, para la simulación de sistemas biomoleculares.^{19–21} Sin embargo, tanto el desarrollo como la validación de estos campos de fuerzas se ha llevado a cabo para péptidos y proteínas lineales, no en péptidos cíclicos.^{22–24} Los nanotubos peptídicos compuestos por *D*, *L*- α -CP se han simulado tradicionalmente utilizando el campo de fuerza CHARMM^{25–29} y AMBER.^{30–32} Sin embargo, a excepción de algunas investigaciones que trataban de reproducir las propiedades conformacionales de un modelo de CP,^{22–24} existe una brecha significativa en la bibliografía sobre la simulación de CPs,

y particularmente SCPNs, con diferentes campos de fuerza.

1.2. Dinámica Molecular.

El acontecimiento de la famosa caída de la manzana sobre la cabeza de Isaac Newton, sea este un acontecimiento verídico o no, es la imagen que tenemos sobre una nueva manera de entender la naturaleza, que propiciaría la aparición en la década de 1680 de las ecuaciones del movimiento clásico. La ecuación principal de este mundo clásico o Newtoniano vendría dada por su segunda ley: *La fuerza neta aplicada sobre un cuerpo es proporcional a la aceleración que adquiere dicho cuerpo*³³.

O simplemente:

$$\sum \vec{F} = \sum m \vec{a} \quad (1)$$

La supercomputación aplicada a la biología molecular está permitiendo entender cómo funciona la vida a nivel molecular, revolucionando la visión que tenemos sobre los seres vivos, impulsándose así campos como el de la Química Computacional y las metodologías dentro del mismo, como por ejemplo la empleada en el presente trabajo: la Dinámica Molecular (MD). La MD puede definirse como un tipo de simulación computacional que permite analizar el comportamiento o evolución de un conjunto limitado de moléculas a lo largo de un periodo de tiempo, calculando las fuerzas entre los átomos que lo conforman mediante las ecuaciones del movimiento de Newton.³⁴ La MD ha experimentado una gran evolución desde su descubrimiento, hace aproximadamente 50 años, gracias al desarrollo, en paralelo, de la supercomputación.

La asombrosa importancia de esta metodología se ha reconocido con el premio Nobel de Química de 2013 a Martin Karplus, Michael Levitt y Arieh Warshel.³⁵ (**Fig.3**). Operacionalmente, consiste en la resolución numérica de las ecuaciones clásicas del movimiento³⁶ para desarrollar un sistema constituido por muchos cuerpos que evoluciona con el tiempo.



(a) Martin Karplus (b) Michael Levitt (c) Arieh Warshel

Figura 3: Premio Nobel en Química del año 2013 a los padres de la Dinámica Molecular.

La aplicación de la mecánica Newtoniana a los sistemas moleculares se basa en dos supuestos principales. La primera suposición es la aplicabilidad de un campo de fuerzas, que no es más que la suma de distintas contribuciones: enlaces, diedros, ángulos, interacciones de Van der Waals e interacciones electrostáticas. Estos campos de fuerzas vienen descritos a través de un potencial (V). Los campos de fuerza comunes se basan en modelos que tratan a los átomos como esferas y los enlaces como osciladores, descomponiendo la energía potencial total en términos independientes. La segunda suposición es la aplicabilidad de la segunda ley de Newton en la simulación de dinámica.

Para un sistema aislado de N partículas tenemos que la fuerza que experimenta un átomo i es:

$$\vec{F}_i = \frac{\partial \vec{p}_i}{\partial t}, \quad i = 1, 2, \dots, N - 1, N \quad (2)$$

Donde \vec{p}_i es el momento lineal de la partícula i -ésima, N el número de partículas del sistema y \vec{F}_i es la fuerza para la partícula i -ésima. Al tratarse de un sistema conservativo, vendrá expresada por el gradiente del potencial:

$$\vec{F} = -\vec{\nabla} V \quad (3)$$

V es una función potencial semiempírica, la cual define el campo de fuerzas. Consta de un conjunto de expresiones matemáticas y parámetros que dictarán las fuerzas de interacción entre las distintas partículas del sistema.

En las componentes que constituyen los campos de fuerzas podemos distinguir dos grupos: los **términos enlazantes** que rigen el comportamiento de átomos unidos a una distancia de no más de tres enlaces covalentes, y los **términos no enlazantes** que describen las interacciones que tienen lugar entre átomos en los que existe una separación superior a cuatro enlaces como pueden ser interacciones de tipo electrostática y de Van der Waals.

$$V = \underbrace{\sum_{\text{enlaces}} K_r (r - r_{eq})^2}_1 + \underbrace{\sum_{\text{angulos}} K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2}_2 + \underbrace{\sum_{\text{dihedros}} \frac{V_N}{2} [1 + (\cos(n\varphi + \delta_n))]}_3 + \underbrace{\sum_i \sum_{i < j} [4\varepsilon_{ij} (\frac{\sigma_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{\sigma_{ij}^6}{r_{ij}^6}) + \frac{q_i q_j}{\varepsilon_0 4\pi r_{ij}}]}_4 \quad (4)$$

- La contribución **1** hace referencia a la tensión de enlace. Existen diferentes aproximaciones para representar el perfil de energía dependiendo del comportamiento armónico o anarmónico (donde se suele recurrir a un potencial de Morse). No obstante, raras veces los enlaces se desvían significativamente de sus valores de equilibrio por lo que se emplea el comportamiento armónico del sistema donde la distorsión de enlace se puede describir mediante el oscilador armónico de Hooke, con K_r la constante de fuerza, r es la distancia de enlace y r_{eq} el valor de equilibrio.³⁷
- La contribución **2** representa la vibración del ángulo entre tres átomos; que puede ser representado de forma sencilla, al igual que en el caso anterior, por un potencial armónico tipo Hooke donde K_θ es la constante de enlace, θ es el ángulo de enlace y θ_{eq} el ángulo de equilibrio.³⁷
- La contribución **3** se refiere a los diedros, donde existen dos tipos: interacciones propias (dadas por el ángulo diedro que se forma entre cuatro átomos) e impropias (utilizadas para forzar a determinados átomos a mantenerse en el plano generado por otros tres). A diferencia de los anteriores, presentan una periodicidad que obliga a expresar sus perfiles energéticos como series de Fourier. V_n es la constante de

fuerza asociada al término n -ésimo, n es la orden del término de la serie, ϕ es el ángulo diedro y δ la fase.

- Finalmente, la contribución 4 expresa los términos no enlazantes, los cuales tienden asintóticamente a cero a medida que aumenta la distancia:

- Interacciones electrostáticas:

$$\sum_i \sum_{i < j} \frac{q_i q_j}{\epsilon_0 4\pi r_{ij}} \quad (5)$$

Se expresan mediante la ley de Coulomb. La distribución de carga de una molécula es representada utilizando cargas puntuales, normalmente centradas en los núcleos, las cuales han sido optimizadas para reproducir las propiedades electrostáticas de la misma. Donde q_i y q_j son las cargas puntuales de cada átomo, r_{ij} la distancia entre átomos y ϵ_0 es la constante dieléctrica del medio.³⁷

- Interacciones de Van der Waals:

$$\sum_i \sum_{i < j} 4\epsilon_{ij} \left(\frac{\sigma_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{\sigma_{ij}^6}{r_{ij}^6} \right) \quad (6)$$

Donde se expresa una contribución de dos fuerzas, una repulsiva para distancias cortas entre átomos y otra atractiva para distancias mayores. La expresión más utilizada para calcular este término es el potencial de Lennard-Jones, donde el término de repulsión depende de la doceava potencia de la distancia entre átomos y el término de atracción depende de la sexta potencia de la distancia.³⁸ σ_{ij} indica cual debe ser la distancia entre partículas para que la interacción sea nula y ϵ_{ij} la fuerza de esta; pueden obtenerse por coeficientes del virial en fase gaseosa y medidas de viscosidad; son constantes para cada par de átomos y están relacionados con sus radios de Van der Waals y durezas. r_{ij} es la distancia entre ellos.³⁷

Para minimizar los efectos que se producen en los bordes de un sistema finito en fase condensada se suele recurrir a las condiciones periódicas de contorno (PBC, de sus

siglas en inglés *Periodic boundary condition*). Mediante ellas, los átomos del sistema se incluyen dentro de una caja tridimensional, la cual estará rodeada de réplicas idénticas de sí misma en todas las direcciones del espacio. Durante la simulación, cuando una molécula se mueve en la caja central, su imagen periódica en cada una de las otras cajas se moverá exactamente con la misma orientación y de la misma manera. Por tanto, si una molécula abandona la caja central, una de sus imágenes entrará por la cara opuesta de la misma. Cuando se usen PBC (o en sistemas muy grandes), el cálculo de las interacciones no enlazantes sería muy costoso computacionalmente, ya que implicará el cálculo de todas las interacciones entre pares atómicos posibles. Por este motivo, se suelen realizar algunas restricciones. Las más comunes son:

- Convergencia de las interacciones. Se calculan sólo las interacciones entre partículas incluidas dentro de un cierto radio (*cut-off*). Aunque esta estrategia reduce en gran medida el número de interacciones a calcular conlleva ciertos problemas en sistemas cargados donde el decaimiento de la energía con la distancia es muy lento. Se pueden llevar a cabo algunas medidas para suavizar esta discontinuidad (*switching* o asignación de grupos cargados).^{39,40}
- Interacciones de largo-alcance. Se utilizan métodos para introducir el efecto de las interacciones electrostáticas de larga distancia dentro del cálculo, siendo el método de Ewald (PME) el más empleado.⁴¹

Utilizando los parámetros que definen todas las interacciones del sistema se calcula la fuerza que actúa sobre cada átomo, obteniendo la trayectoria de cada uno de ellos mediante la integración de las ecuaciones de movimiento de Newton, empleando intervalos de tiempo (*time steps*) muy pequeños (del orden de 1 o 2 fs). Existen diversos algoritmos de integración numérica de las ecuaciones de Newton, como por ejemplo el de Verlet, Beeman o *leap-frog*, donde las posiciones y las propiedades dinámicas se aproximan mediante una expansión en serie de Taylor:³⁷

$$x_i(t + \Delta t) = x_i(t) + \frac{\Delta x}{\Delta t} + \frac{\Delta^2 x}{2\Delta t^2} \quad (7)$$

Donde r son las posiciones y v las velocidades. Estos algoritmos se basan en el cálculo de las posiciones y aceleraciones de los átomos a un tiempo $t+\Delta t$ a partir de las fuerzas que actúan sobre ellos en un tiempo anterior t , donde son conocidas.

Es, por tanto, necesario definir unas condiciones iniciales. En el caso de las velocidades, estas se suelen obtener a partir de una distribución de Maxwell-Boltzmann para la temperatura de simulación, recalculándose a cada paso utilizando el potencial obtenido con el campo de fuerzas. El tiempo de integración (paso de tiempo), jugará un aspecto fundamental a la hora de ejecutar la simulación, siendo el más empleado el de 2 fs.

En el presente trabajo se emplearán los campos de fuerzas de GROMOS, AMBER, OPLS y CHARMM (*véase Sección 3*).

■ Diferencias y semejanzas entre campos de fuerzas.

Como se comentó en el apartado anterior, un campo de fuerzas no es más que la suma de distintas contribuciones: enlaces, diedros, ángulos, interacciones de Van der Waals e interacciones electrostáticas. Las diferencias entre ellos dependerán de la definición de estos parámetros, algunos ejemplos son:⁴² Los campos de fuerzas GROMOS y CHARMM añaden un término específico para definir los diedros impropios, CHARMM añade un término angular Urey-Bradley para representar las vibraciones angulares y de enlace que impliquen tres átomos, en los términos no enlazantes. AMBER y CHARMM obtienen r_{ij} y ε_{ij} como:

$$r_{ij} = \frac{r_i + r_j}{2} \quad \varepsilon_{ij} = \sqrt{\varepsilon_i \varepsilon_j} \quad (8)$$

Mientras que en OPLS y GROMOS se emplea una media geométrica para ambos casos.

Una diferencia bastante considerable es que, normalmente, cada partícula de un campo de fuerzas coincide con un átomo, como por ejemplo en los campos de fuerzas de AMBER o CHARMM. Sin embargo, esto no siempre es así, ya que hay campos de fuerzas en los que los átomos pesados se agrupan con sus hidrógenos no polares (típicamente son hidrógenos en grupos como: CH₂, CH₃...) para formar una única subunidad de interacción, como en el campo de fuerzas de GROMOS. La aproximación utilizada es lo que determina la

resolución de la simulación.

Para aquellos casos en los que se representa cada átomo de forma explícita e individual, la resolución se denomina atomística o *all-atoms* (AA), mientras que cuando no todos los átomos están representados, sino que los hidrógenos no polares están descritos como parte de agrupaciones, recibe el nombre de *united-atoms* (UA) (**Fig. 4**).⁴³

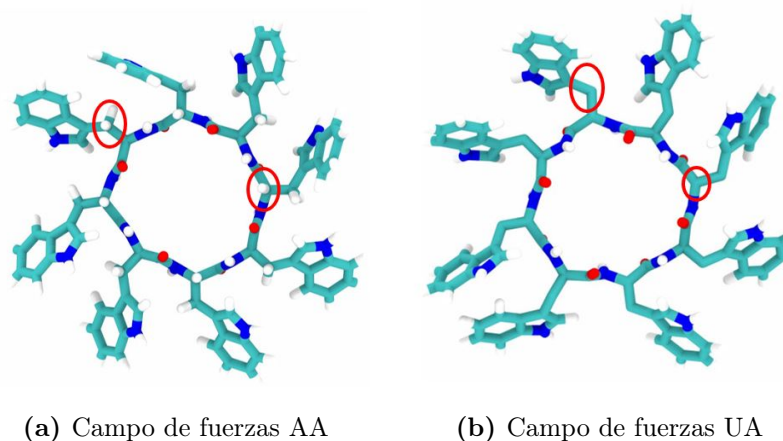


Figura 4: Comparación entre representaciones de un campo de fuerzas AA y uno UA.

2. Objetivos.

El objetivo del presente trabajo es llevar a cabo un estudio comparativo de la influencia de varios campos de fuerzas clásicos (AMBER, GROMOS, CHARMM y OPLS), típicamente validados para péptidos lineales, en la simulación de un sistema formado por péptidos cíclicos. Para ello, se han llevado a cabo simulaciones computacionales de dinámica molecular de un SCPN formado por c-[(L-Trp-D-Trp)-4] insertado en una bicapa lipídica (POPC). Los resultados obtenidos permitirán examinar diferentes propiedades estructurales y dinámicas de estos sistemas con la finalidad de comprobar si existen comportamientos distintos según la parametrización empleada.

3. Materiales y métodos.

El SCPN estudiado en este trabajo está constituido por ocho D,L - α -CPs, que atraviesan perpendicularmente una membrana de POPC. Los CPs están formados por 8 residuos de Trp con estereoquímica D y L alternada, con una secuencia $c-[(L\text{-Trp-}D\text{-Trp})_4]$. La disposición de los CPs en el SCPN es antiparalela, tal como sugieren trabajos previos,⁴⁴ de manera que las interacciones entre los aminoácidos de CPs adyacentes se producen exclusivamente entre los D - D y los L - L , orientados hacia cada una de las caras (**Fig. 1B**). Tras insertar el nanotubo en el interior de la membrana de POPC, previamente equilibrada, se procede a la solvatación de las cabezas polares de los lípidos, eliminando el agua tanto en la región hidrofóbica, como en el interior del nanotubo (**Fig. 1D**). Así, el sistema final está compuesto por 8 CPs, 77 lípidos y un total de 7367 moléculas de disolvente.

Para la parametrización del CP se emplearon los siguientes campos de fuerzas: OPLS,^{45,46} AMBER99sb,⁴⁷ GROMOS54a7⁴⁸ y CHARMM36m.⁴⁹ Las topologías para cada campo de fuerza se obtuvieron a partir de los correspondientes ficheros generados con herramientas de GROMACS (pdb2gmx) para el péptido lineal análogo, modificándolos posteriormente con un script de Python para cerrarlo. Los modelos de agua empleados fueron TIP3P,⁵⁰ para AMBER y CHARMM, el modelo TIP4P⁵¹ para OPLS y SPC⁵² para GROMOS, por ser con los que se han parametrizado dichos campos de fuerzas. Los parámetros para la membrana de POPC se obtuvieron del Lipidbook⁵³ y Zenodo: Slipids,⁵⁴ CHARMM36,^{55,56} OPLS^{57,58} y GROMOS53a6,⁵⁴ para AMBER, CHARMM, OPLS y GROMOS, respectivamente.

Todas las simulaciones se realizaron con el software GROMACS 2019.3.³⁹ Los sistemas se minimizaron previamente empleando un algoritmo *steepest descent*. Posteriormente, se llevó a cabo una simulación de MD durante 300 ns con un paso de tiempo de 2 fs para todos los campos de fuerzas utilizados. Los primeros 80 ns se descartaron para los análisis, considerándose tiempo de equilibrado. Las coordenadas atómicas se guardaron cada 2 ps.

Se empleó un conjunto canónico NPT (presión y temperatura constantes) con una

presión de 1 bar controlada mediante un barostato Parrinello-Rahman semi-isotrópico,⁵⁹ y a una temperatura de 300K impuestas por el termostato V-rescale.⁶⁰ El algoritmo de LINCS⁶¹ se utilizó para eliminar las vibraciones de enlace. El método PME,⁴¹ acoplado a las condiciones de contorno periódicas, se empleó para tratar las interacciones electrostáticas de largo alcance utilizando un *cut-off* de 1.0 nm y un intervalo de malla de 0.12 nm. Las interacciones de Van der Waals se calcularon mediante PBC acoplado a un *cut-off* esférico de 1.0 nm.

Estos parámetros de simulación se emplearon para todos los campos de fuerza incluso cuando no corresponden exactamente a los utilizados para su parametrización original. Hay que destacar que, como se ha comentado previamente, en el desarrollo de los campos de fuerza clásicos no se emplearon CPs, sino sistemas lineales, por lo que se espera que los cambios realizados en el *cut-off* o en los parámetros específicos para el control de presión o temperatura tengan un impacto menor en los resultados que la introducción de la variable de la ciclación del sistema. Además, desde el punto de vista práctico, un conjunto común de parámetros de simulación es conveniente para facilitar la comparación entre campos de fuerza.

■ Análisis de las trayectorias.

Los análisis estándar (*Root mean squared deviation*, *Root mean square fluctuation*, enlaces de hidrógeno...) de las trayectorias se llevaron a cabo utilizando herramientas del paquete de GROMACS. El radio interior de la cavidad del SCPN se obtuvo utilizando el programa CHAP.⁶² Otros análisis más específicos se realizaron con scripts de Python⁶³ desarrollados particularmente durante el proyecto para tal fin, basados fundamentalmente en las bibliotecas MDAnalysis,^{64,65} Numpy,⁶⁶ Pandas⁶⁷ y Matplotlib.⁶⁸ Los primeros 80 ns de cada trayectoria se descartaron para el cálculo de todas las propiedades promedio. El software VMD⁶⁹ se empleó para generar películas e instantáneas a partir de las trayectorias obtenidas.

En las representaciones de series temporales se han realizado medias móviles sin ponderar de orden 100 para eliminar ruido y presentar los resultados con mayor claridad.

En el cálculo de incertidumbres, por tratarse de una serie temporal y encontrarse los datos correlacionados entre sí, se ha empleado la técnica de *block-average*.⁷⁰ En las representaciones se ha multiplicado dicho valor por 1.96, asumiendo una distribución gaussiana, teniendo así un intervalo de confianza del 95 %.⁷¹

4. Resultados y discusión.

Con el objetivo de evaluar la influencia de diferentes campos de fuerza en un nanotubo formado por péptidos cíclicos, se llevaron a cabo simulaciones MD de un SCPN compuesto por c-[$(L-Trp-D-Trp)_4$] insertado en una bicapa lipídica de POPC, utilizando cuatro campos de fuerza clásicos diferentes comúnmente empleados para simular sistemas biomoleculares: AMBER, CHARMM, OPLS y GROMOS54a7. A partir de las trayectorias generadas, se analizaron las propiedades estructurales y dinámicas del SCPN así como el comportamiento de las moléculas de agua en su cavidad interior, comparándose los resultados entre los diferentes campos de fuerzas.

4.1. Influencia del campo de fuerzas en la estabilidad estructural del *D,L*- α -SCPN.

La visualización de la trayectoria sugiere que la estructura tubular del SCPN se mantiene estable a lo largo de todo el tiempo de simulación, con todos los campos de fuerza empleados (**Fig.5**).

Para evaluar de manera cuantitativa la estabilidad del SCPN a lo largo de la simulación, se llevaron a cabo los análisis RMSD y RMSF.

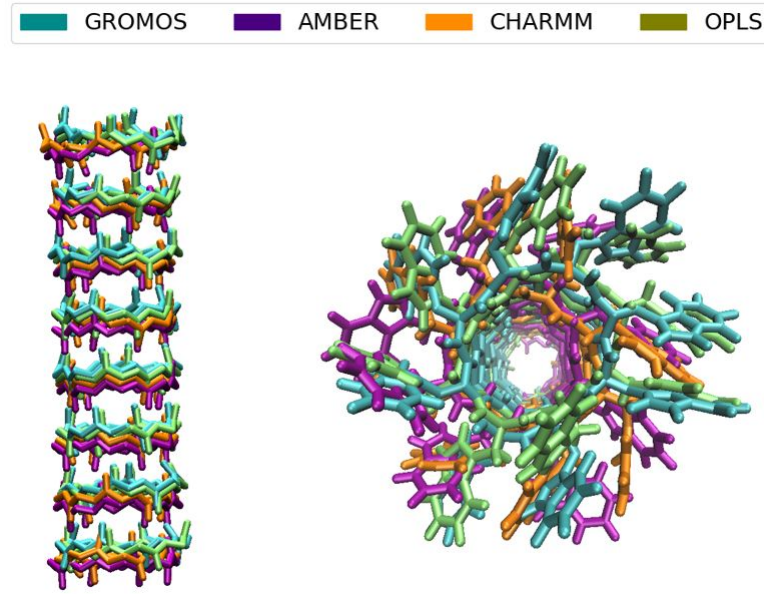


Figura 5: Vista lateral y superior de la estructura final ($t=300$ ns) del nanotubo simulado en este trabajo, empleando diferentes campos de fuerzas (GROMOS, AMBER, CHARMM y OPLS). Cada color representa un campo de fuerzas diferente.

4.1.1. Root-mean-squared-deviation (RMSD).

En este análisis se estudia la desviación cuadrática media de una determinada estructura respecto a otra de referencia, la inicial, dando una idea de la diferencia estructural que existe entre ambas para cada par de estructuras de la trayectoria alineadas en un espacio tridimensional. El valor 0 indica que ambas estructuras son idénticas y valores más elevados muestran mayores diferencias. La expresión matemática se obtiene de:

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n d_i^2} \quad (9)$$

Donde el promedio se realiza sobre los n pares de átomos equivalentes y d_i es la distancia entre los dos átomos del i -ésimo par. En este estudio podrá expresarse como $d_i = r_i(t_1) - r_i(t_2)$, pues la distancia será la diferencia entre el mismo átomo del i -ésimo par a un tiempo inicial, t_1 y otro tiempo cualquiera t_2 .

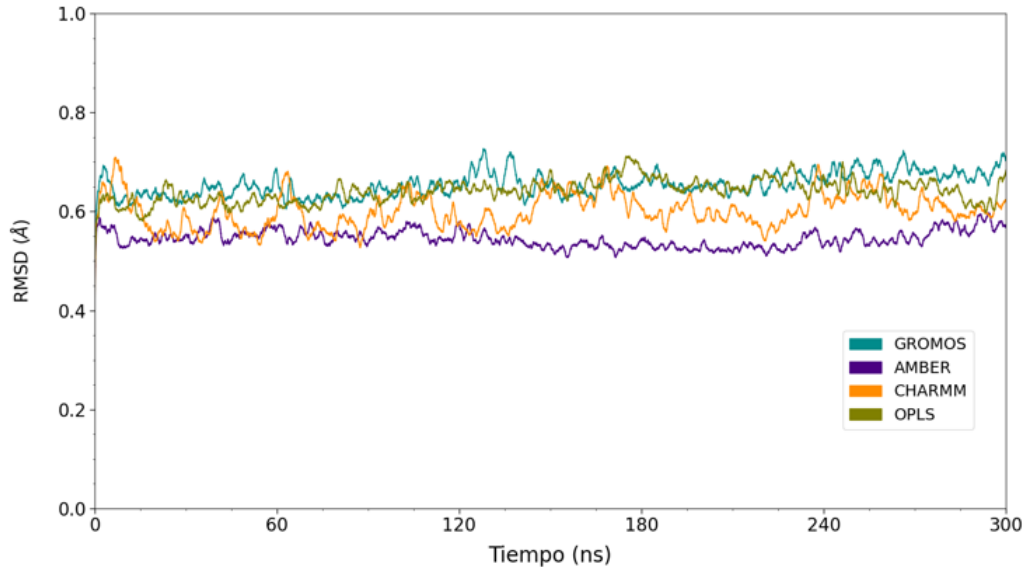


Figura 6: RMSD para el esqueleto peptídico (*backbone*) del nanotubo a lo largo de toda la trayectoria con respecto a la estructura inicial (después del minimizado). Cada color representa un campo de fuerzas diferente.

El RMSD obtenido para cada uno de los campos de fuerzas empleados en este estudio, considerando únicamente el esqueleto peptídico del SCPN, confirma una elevada estabilidad estructural a lo largo de toda la trayectoria (**Fig. 6**). En todos los casos los valores de RMSD son bajos, entorno 0.6 Å, y con diferencias muy pequeñas entre todos los campos de fuerzas empleados, siendo ligeramente inferiores para el caso de AMBER.

4.1.2. Root-mean-square-fluctuation (RMSF).

El RMSF es una medida de la desviación entre la posición de la partícula i -ésima y alguna posición de referencia, proporcionando una idea sobre la media del desplazamiento (o fluctuación) a lo largo del tiempo. Su expresión matemática correspondiente es:

$$RMSF = \sqrt{\frac{1}{T} \sum_{t_j=1}^T (r_i(t_j) - r_i^{ref})^2} \quad (10)$$

donde T es el tiempo durante el cual se quiere promediar y r_i^{ref} es la posición de referencia de la partícula i -ésima. Esta posición de referencia vuelve a ser la estructura

4.1 Influencia del campo de fuerzas en la estabilidad estructural del *D,L*- α -SCPN.

inicial de la simulación. La diferencia entre RMSD y RMSF es que esta última se promedia a lo largo del tiempo, dando un valor para cada partícula i -ésima, mientras que para la RMSD se toma el promedio de todas las partículas, dando valores específicos de tiempo.

El RMSF permite obtener una información complementaria a la del RMSD, pues a lo largo del tiempo el desplazamiento medio de cada $C\alpha$, mantiene valores bajos, indicando pequeñas fluctuaciones respecto al valor de referencia (**Fig. 7**). Por otro lado, se aprecia que los ciclopéptidos de los extremos del nanotubo poseen valores de RMSF más altos que los situados en el interior, debido al contacto que establecen estos residuos con la región polar de la membrana y con el disolvente. De nuevo, el campo de fuerzas de AMBER es el que conduce a menores valores de RMSF para todos los CPs del nanotubo, sugiriendo, para este campo de fuerzas, una mayor rigidez estructural del nanotubo.

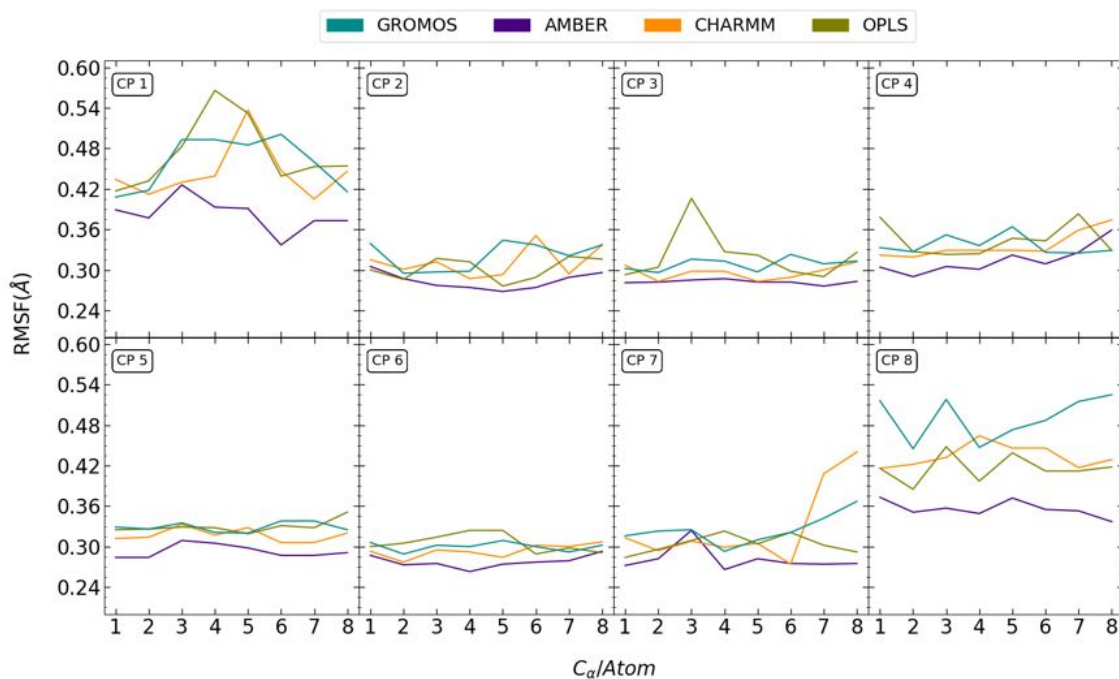


Figura 7: RMSF para cada $C\alpha$ de cada CP a lo largo de toda la trayectoria con respecto a la estructura inicial (después del minimizado). Cada color representa un campo de fuerzas diferente.

A pesar de la gran utilidad de estos análisis, RMSD y RMSF, implementados en el propio paquete de GROMACS, presentan una limitación importante: ambos necesitan de una estructura de referencia sobre la que alinear el nanotubo, lo cual podría enmascarar información importante que podría ser revelada con un análisis más específico.

Con el fin de evitar esta restricción, se desarrolló un análisis complementario para evaluar la desviación estructural de cada uno de los CPs del nanotubo a lo largo de la trayectoria, sin necesidad de llevar a cabo el alineamiento de los mismos sobre una estructura de referencia.

4.1.3. Posición media y desviación estándar de los $C\alpha$ por ciclopéptido.

El vector normal de cada CP (\vec{n}) se ha determinado mediante una media de los productos vectoriales entre vectores alternos (**Fig. 8**) que unen el $C\alpha$ (\vec{r}_i) con el centro geométrico (c.g) de cada CP ($\vec{r}_i' = \vec{r}_i - \vec{r}_c$):

$$\vec{n} = \sum_{i=1}^8 (\vec{r}_i' \times \vec{r}_{i+2}') / |\vec{r}_i' \times \vec{r}_{i+2}'| \quad (11)$$

Las barras verticales expresan el módulo del vector, \vec{r}_i' representa la posición de cada $C\alpha$ respecto al centro geométrico de cada CP. Tanto el vector normal como el centro geométrico del CP son empleados para determinar la ecuación del plano (Π) del CP. La posición de cada uno de los $C\alpha$ es proyectado en el plano y se calcula la distancia de esta proyección con el centro geométrico del CP a lo largo de toda la simulación para cada uno de los CP.

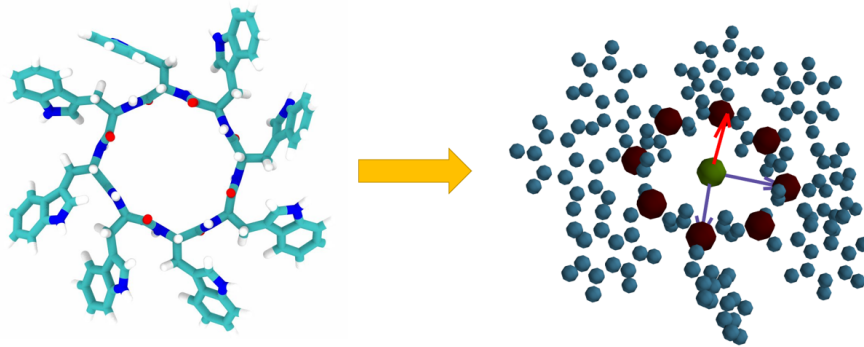
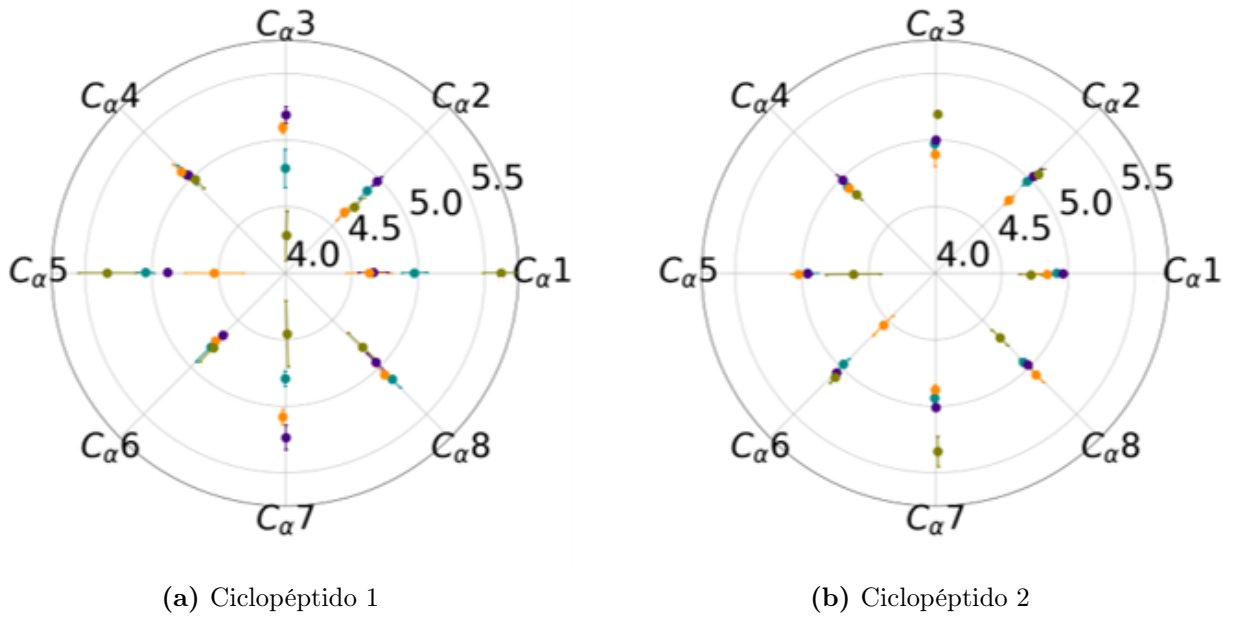


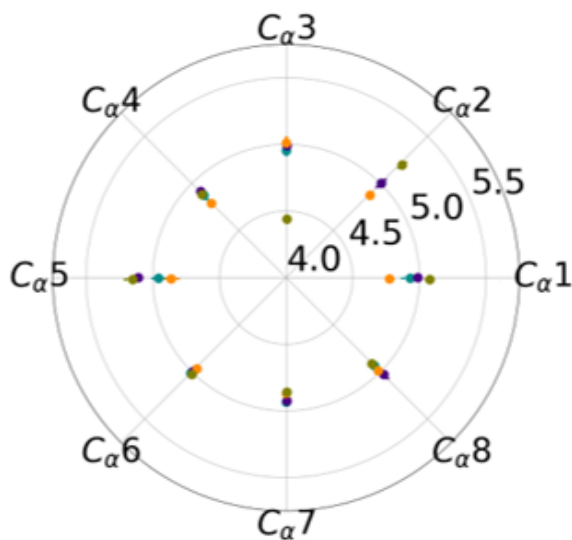
Figura 8: Representación de las posiciones de los átomos que constituyen el CP. Las esferas marrones representan los $C\alpha$, la esfera verde el c.g. del CP, los vectores morados se emplean para obtener el vector normal, representado en rojo.

Además, se ha calculado el ángulo entre cada \vec{r}_i' proyectado en el plano del CP (\vec{r}_i''),

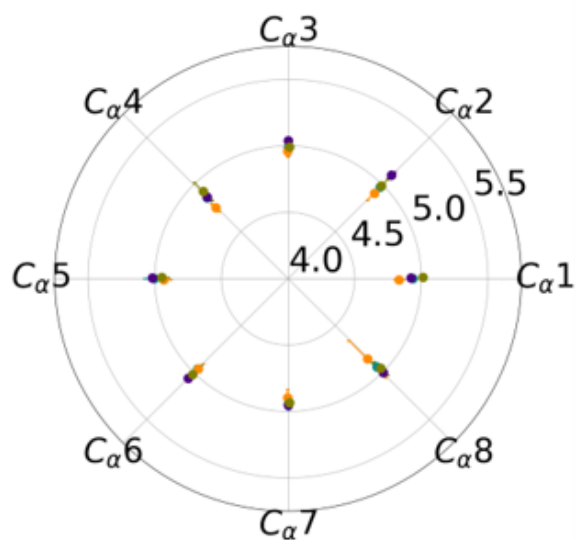
y la suma de todos los equivalentes vectores para los restantes 7 C_α , es decir $\sum \vec{r}_j^i$ tal que $j \neq i$. La media de estas dos magnitudes se ha representado junto con su desviación estándar como una medida de la deformación angular y radial del SCPN.

Aplicando este análisis a todas las trayectorias generadas (media calculada durante los últimos 220 ns para cada C_α con su incertidumbre obtenida por el método *block-average*), se obtuvieron los resultados mostrados en la **Fig. 9**, que revelan una menor simetría en los CPs de los extremos para todos los campos de fuerzas, así como una menor incertidumbre en los CPs simulados con AMBER, indicando una mayor rigidez. Estos dos hechos concuerdan con lo obtenido en el apartado de RMSD y RMSF (*véase Sección 4.1.1 y 4.1.2*). A su vez, apenas se aprecian desviaciones en la componente angular. Los componentes radial y angular de la deformación y fluctuación de cada CP sugieren que la distorsión de los CP en los bordes del SCPN es mayor que en los internos. Se observaron distancias ligeramente mayores entre los C_α y el centro de los CP en las simulaciones realizadas con AMBER, anticipando un radio ligeramente mayor para el canal en esta simulación (*véase Sección 4.2.1*), y, por el contrario, se encontraron distancias más cortas para las simulaciones con CHARMM.

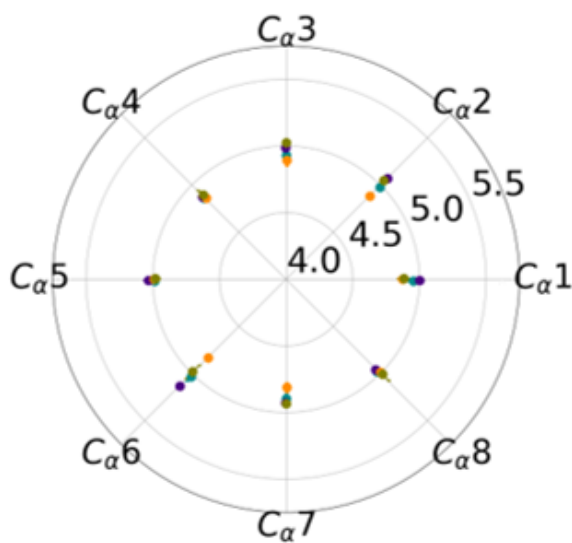




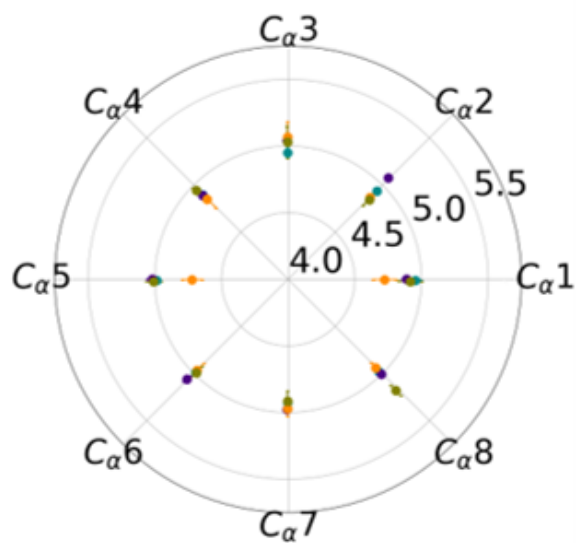
(c) Ciclopéptido 3



(d) Ciclopéptido 4



(e) Ciclopéptido 5



(f) Ciclopéptido 6

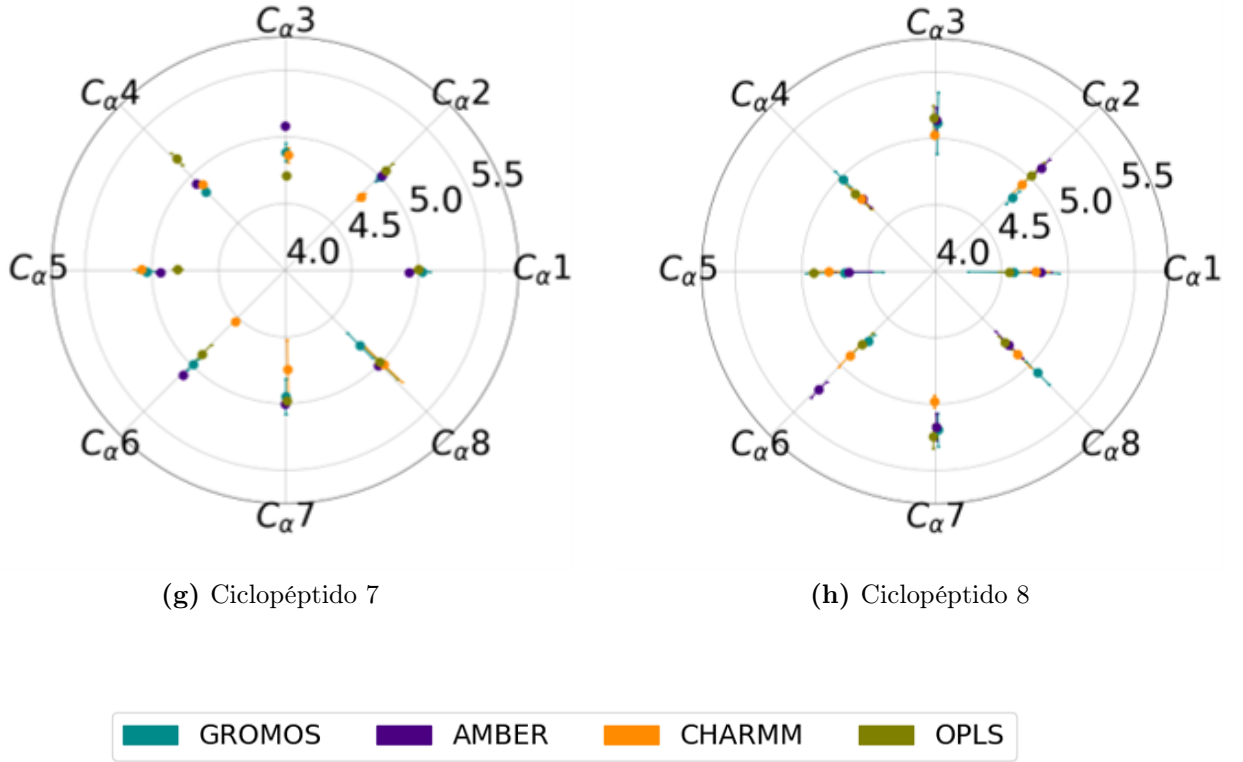


Figura 9: Media de las contribuciones a la deformación de los CPs, tanto angular como radial, en los últimos 220 ns de la trayectoria, para cada campo de fuerzas. La deformación radial es representada por los círculos sólidos que muestran la distancia entre la proyección de cada $C\alpha$ en el plano con el centro geométrico del CP (en Å). Cada línea radial indica la posición ideal del ángulo de cada $C\alpha$ en el CP; la posición de cada uno de los círculos sólidos respecto a esta línea indica su desviación angular.

4.1.4. Ángulo entre los $C\alpha$ del CP y su proyección en el plano.

Empleando las definiciones anteriores, se calculó el ángulo (δ) que forma cada vector \vec{r}_i con el plano del CP, representándose los valores medios de cada uno (**Fig. 10**).

Para obtener este ángulo se empleó la definición de producto escalar:

$$\cos(\delta) = \frac{\vec{r}_i^J \cdot \vec{r}_i^H}{\|\vec{r}_i^J\| \|\vec{r}_i^H\|} \quad (12)$$

donde las barras verticales expresan el módulo del vector.

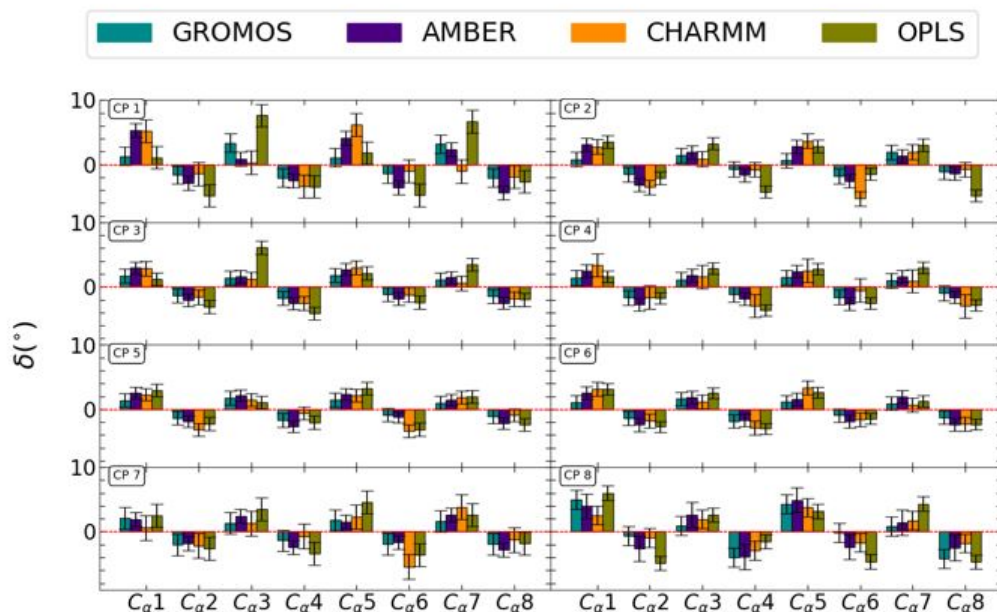


Figura 10: Valor medio del ángulo entre el vector que une el centro geométrico de cada CP con cada uno de los $C\alpha$ y el plano del CP. Cada color representa un campo de fuerzas diferente.

Como era de esperar por la propia estructura zigzageante del ciclopéptido, los resultados conducen a una serie alternada de valores de ángulos positivos y negativos. Si un $C\alpha$, queda por encima del plano II, el adyacente quedará por debajo de dicho plano. Estos ángulos son mayores, en valor absoluto, para OPLS, CHARMM y AMBER que para GROMOS. Se observan dispersiones en los ángulos significativamente mayores para el primer y último CP del SCPN, que se ven más afectados por la interacción con las cabezas lipídicas y el disolvente. Considerando exclusivamente los 6 CP centrales se observa que los valores medios de los ángulos son $(2.8 \pm 0.4)^\circ$ para OPLS, $(2.1 \pm 0.2)^\circ$ para CHARMM, $(2.1 \pm 0.1)^\circ$ para AMBER y $(1.4 \pm 0.2)^\circ$ para GROMOS. Mostrando que los $C\alpha$ más alejados del plano son los de OPLS.

4.1.5. Distancias entre centros de masas de los CPs.

A diferencia de otros canales transmembrana, como los formados por nanotubos de carbono, los CPs que componen el SCPN están unidos entre sí de forma no covalente, lo que permite una mayor flexibilidad longitudinal.

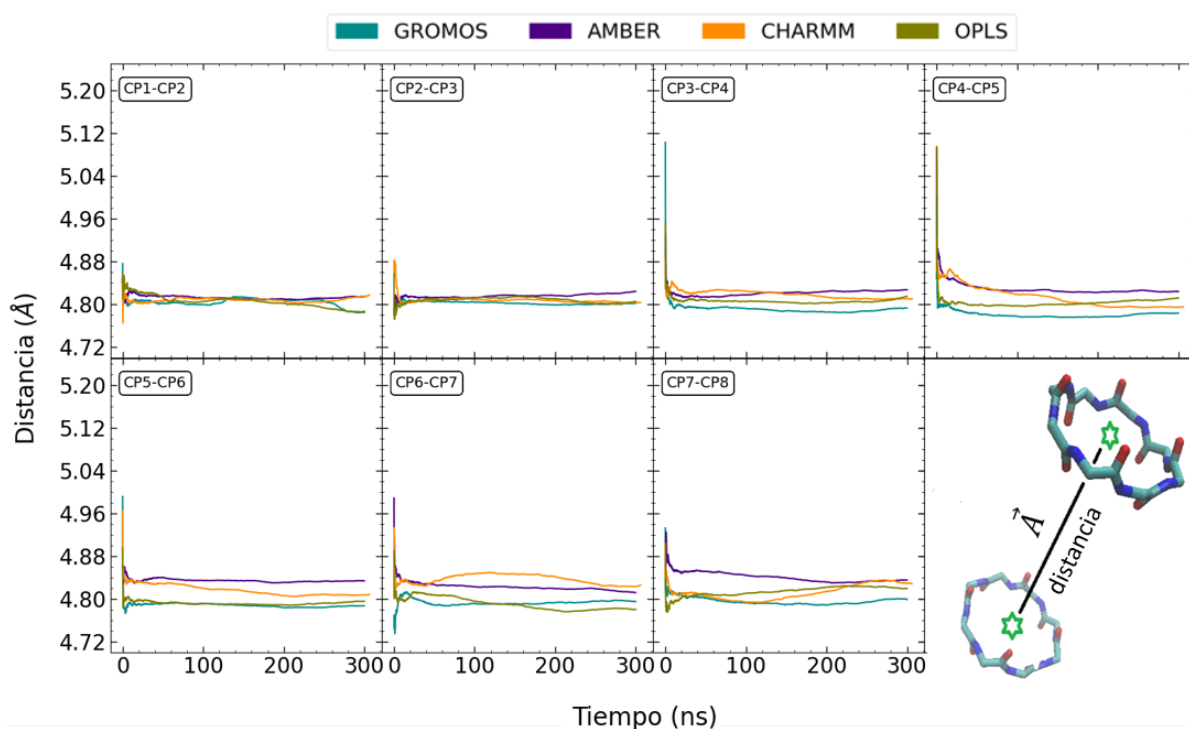


Figura 11: Evolución de la distancia del c.g. entre pares de CPs a lo largo de la trayectoria. Cada color representa un campo de fuerzas.

La distancia entre los centros de masas de los CPs presentan una leve reducción durante los primeros ns (tiempo necesario para que se equilibre el sistema) en todas las trayectorias y luego se estabiliza durante el resto de la simulación (**Fig. 11**). En algunos casos, la distancia entre los CP cambia después de 100-200 ns, pero este cambio es muy lento y pequeño (décimas de amstrong). Esto ocurre, por ejemplo, para la distancia entre CP6 y CP7 para la simulación con CHARMM, que aumenta en ~ 0.05 Å de 50 a 200 ns para finalizar la trayectoria con ambos CP a prácticamente la misma distancia que para el resto de los campos de fuerza (una media de 4.8 Å). En general, la evolución de estas distancias es muy similar para todos los campos de fuerza y concuerdan con el valor bibliográfico.¹⁴ Sin embargo, puede observarse que las subunidades están ligeramente más próximas entre sí para la simulación realizada con GROMOS y más alejadas para las de AMBER, lo que puede explicar las diferencias entre el número de aguas en el interior del SCPN para los distintos campos de fuerzas, como se verá a continuación.

4.1.6. Enlaces de hidrógeno entre CPs.

Los enlaces de hidrógeno (enlaces de H) entre los CPs juegan un papel fundamental para mantener la cohesión de la estructura del SCPN. Los valores se han obtenido directamente con el software GROMACS, donde se emplea un criterio puramente geométrico para la formación del enlace de H: la distancia entre el átomo donador (D) y el aceptor (A) debe ser menor a 0.35 nm y el ángulo que forman D, A y el átomo de hidrógeno (H) debe cumplir $\angle HDA \leq 30^\circ$.

Los resultados obtenidos en todas las trayectorias muestran un número medio de enlaces de H de aproximadamente 54–55 enlaces de H a lo largo del SCPN (**Fig. 12.d**). Los valores superiores a 56 (número máximo de enlaces de H que pueden establecerse en un nanotubo ideal, considerando únicamente el esqueleto de los CPs) son debidos a los enlaces de H que pueden formarse, a mayores, entre las cadenas laterales de los CPs (Trp). Es de destacar que el número de enlaces de H entre CPs es ligeramente menor para la simulación con el campo de fuerzas de GROMOS. El análisis de enlaces de H para cada pareja de CPs (considerando únicamente sus esqueletos peptídicos) muestra que el número medio de enlaces H está muy cerca del valor máximo (8) para todas las simulaciones. Las interacciones entre los CP terminales, que están en contacto con las cabezas polares de los lípidos y con el disolvente, parecen ser ligeramente más débiles en algunas de las trayectorias estudiadas (**Fig 12.b**). Así, por ejemplo, el número de enlaces H entre CP7–CP8 es de 7.5 para todas las simulaciones excepto en el caso de OPLS.

Las moléculas de lípidos y agua también pueden formar enlaces H con los CPs, y esta competencia compromete la estabilidad de los SCPN. La diferencia entre los campos de fuerza en el análisis de estas interacciones es mayor que las diferencias observadas en el número de enlaces H entre CP. Mientras que la trayectoria con CHARMM conduce al menor número de enlaces H entre el SCPN y el disolvente, AMBER y OPLS exhiben la tendencia opuesta (**Fig. 12.a**). Por otra parte, en lo que respecta a las interacciones entre CPs y las cabezas lipídicas, las simulaciones con GROMOS y AMBER proporcionan el menor número de enlaces de H (**Fig. 12.c**).

4.1 Influencia del campo de fuerzas en la estabilidad estructural del *D,L*- α -SCPN.

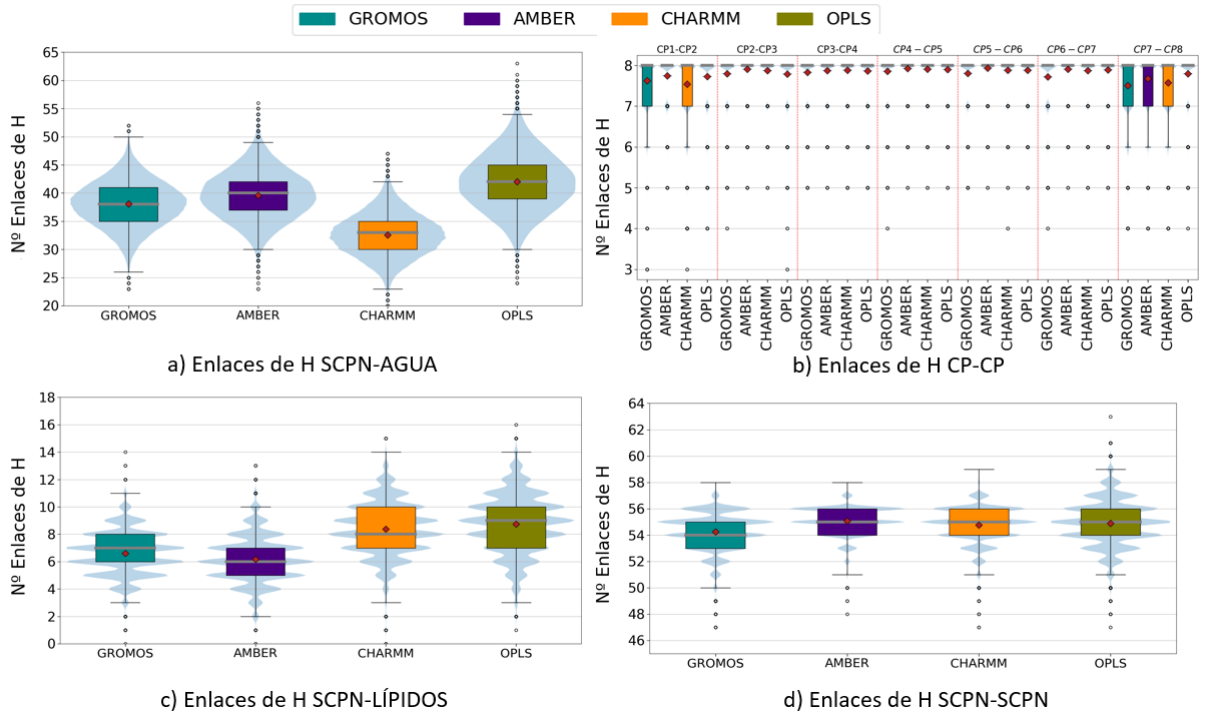


Figura 12: Número de enlaces de hidrógeno para los distintos campos de fuerzas. La línea gris representa la mediana y el cuadro rojo la media de las distribuciones. El tamaño de la caja representa el segundo y tercer cuartil por lo que el 50 % de los datos están contenidos en ella. Los bigotes siguen el criterio de Tukey.⁷²

Por su parte, el propio algoritmo de GROMACS también proporciona la vida media de los enlaces H (**Fig. 13**). Entre pares de CPs internos, el tiempo de vida de estos enlaces es mayor que para los CPs situados en los extremos del SCPN, para todas las trayectorias estudiadas. AMBER proporciona una vida media más larga, mientras que en GROMOS la vida de los enlaces de H es significativamente más corta. La tendencia es similar para la interacción entre los CPs y las moléculas de lípidos o agua. En particular, la trayectoria de GROMOS proporciona la vida media más baja entre todas las simulaciones y OPLS proporciona el valor máximo para la vida media en los enlaces de H del SCPN con los lípidos. Por otro lado, CHARMM presenta los valores más elevados de vida media en el caso de las interacciones entre el nanotubo y el agua.

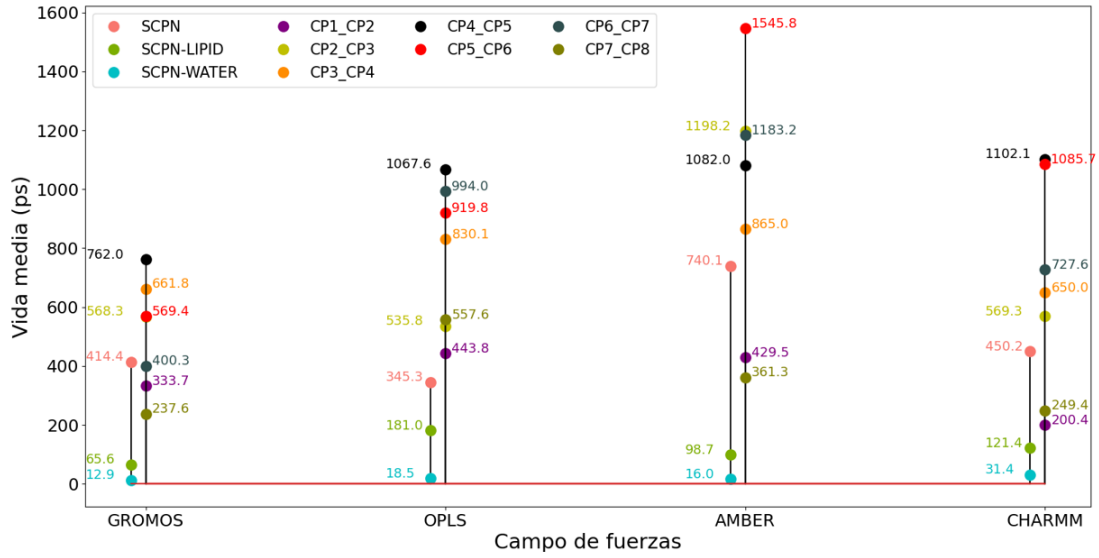


Figura 13: Vidas medias de los enlaces de hidrógeno, calculadas con GROMACS, entre diferentes contribuciones.

4.2. Influencia del campo de fuerzas en las propiedades del poro del *D,L*- α -SCPN.

La estructura del SCPN crea un poro abierto estable a través de la membrana lipídica. Esta cavidad sirve como canal de paso para pequeñas moléculas. En este trabajo se estudiaron el número de moléculas de agua que se pueden albergar en el interior del nanoporo.

4.2.1. Radio interior del poro creado por el SCPN.

Para obtener el valor del radio interno del nanotubo se ha empleado programa CHAP.⁶² El radio de la cavidad a lo largo del eje del nanoporo presenta un patrón regular con mínimos a nivel de todos los planos del CP y máximos en las regiones interCP, (**Fig. 14**), de acuerdo con trabajos previos.²⁹ El radio observado para la trayectoria AMBER fue ligeramente más grande que para los otros campos de fuerza, tal y como habían anticipado las distancias más largas del C α al centro de cada CP (**Fig. 9**).

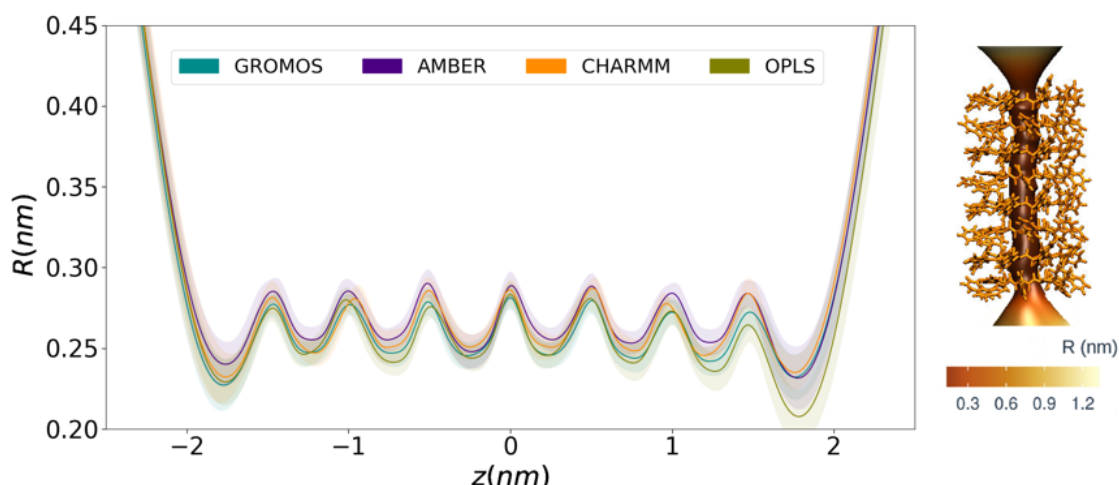


Figura 14: Izqda: Radio interno del SCPN calculado con CHAP⁶² a lo largo de las simulaciones de MD usando diferentes campos de fuerzas así como su desviación estándar (sombreado) en 2D. Dcha: Ejemplo en 3D del cálculo del radio interno para el campo de fuerzas GROMOS.

4.2.2. Distribución de las moléculas de agua en el interior del nanotubo.

La disposición del agua en el interior del canal presenta diferencias considerables en función del campo de fuerza empleado (**Fig. 15**). Se ha sugerido que la distribución de las moléculas de agua dentro de este tipo de nanotubos sigue un perfil de (1-2) moléculas de agua (con una molécula en los planos CP y dos moléculas entre CPs), lo que daría un total de 24 moléculas de agua dentro de la cavidad.⁷³ Las simulaciones que utilizan el campo de fuerza de GROMOS se ajustan mejor a este patrón que las de OPLS, CHARMM y AMBER, que incorporan varias moléculas de agua adicionales dentro de la cavidad (**Fig. 15 y 16**). En particular, en las simulaciones llevadas a cabo con AMBER incorporan un promedio de ~ 31 moléculas de agua dentro del SCPN a lo largo de toda la trayectoria. Esta mayor ocupación del canal probablemente esté relacionada con el mayor radio interno exhibido por el SCPN cuando se simula con el campo de fuerza AMBER (**Fig. 14**) (no así en CHARMM, que representando el menor radio interno no es el que contiene el menor número de moléculas de agua) y con la mayor distancia entre CPs (**Fig. 11**) lo que permite un canal más largo para albergar una mayor cantidad de disolvente. A diferencia de lo esperado y observado para las simulaciones basadas en GROMOS, el perfil de agua para las simulaciones con AMBER fue (2-3). En cualquier caso, ha de tenerse en cuenta

que el modelo de agua empleado en las simulaciones es distinto y está relacionado con la parametrización original de los campos de fuerzas utilizados.

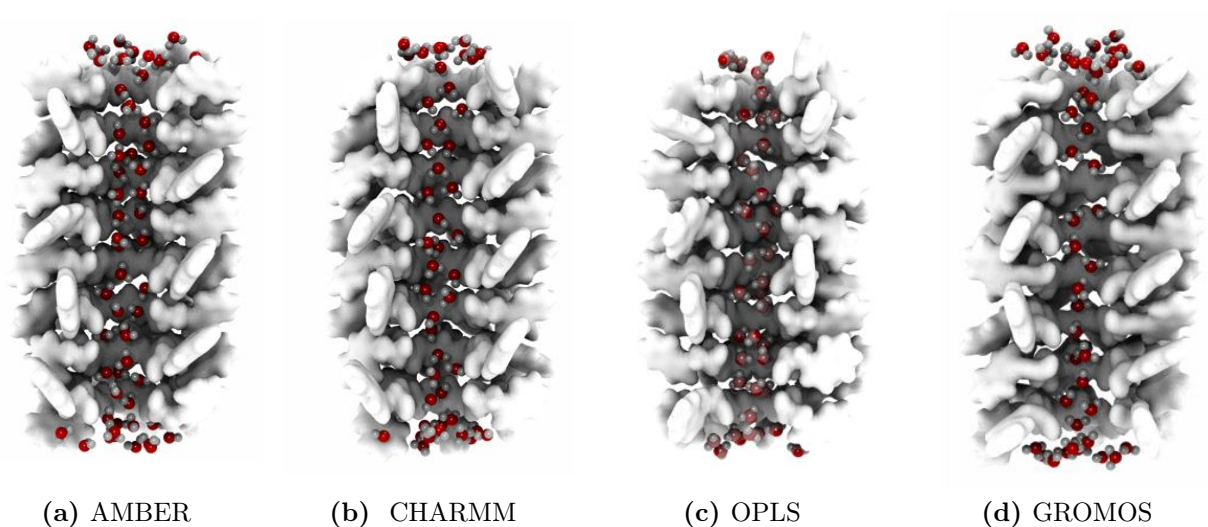


Figura 15: Moléculas de agua en la cavidad interior del SCPN para distintos campos de fuerzas en el último instante de la simulación (300 ns).

Para el cálculo del número de aguas en la cavidad interior del nanotubo se desarrolló un script con Python que calcula las posiciones de los $C\alpha$, y posteriormente cuenta el número de moléculas de agua que se encuentran en el interior de dichos límites, obteniendo los resultados mostrados en la **Fig. 16**.

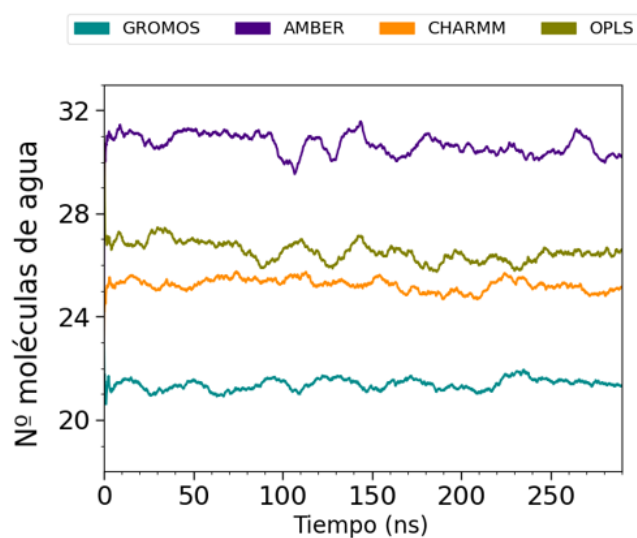


Figura 16: Evolución del número de aguas en el interior del SCPN a lo largo de la trayectoria para cada campo de fuerzas.

La tendencia observada en el número de moléculas de agua que llenan los SCPN también se refleja en los mapas de densidad 2D (**Fig.17**, **Fig.18** y **Fig.19**) del disolvente confinado.

El agua dentro de los canales revela un patrón diferente para cada campo de fuerza, sugiriendo densidades más altas para AMBER y densidades más bajas para GROMOS, tanto en el plano axial como longitudinal.

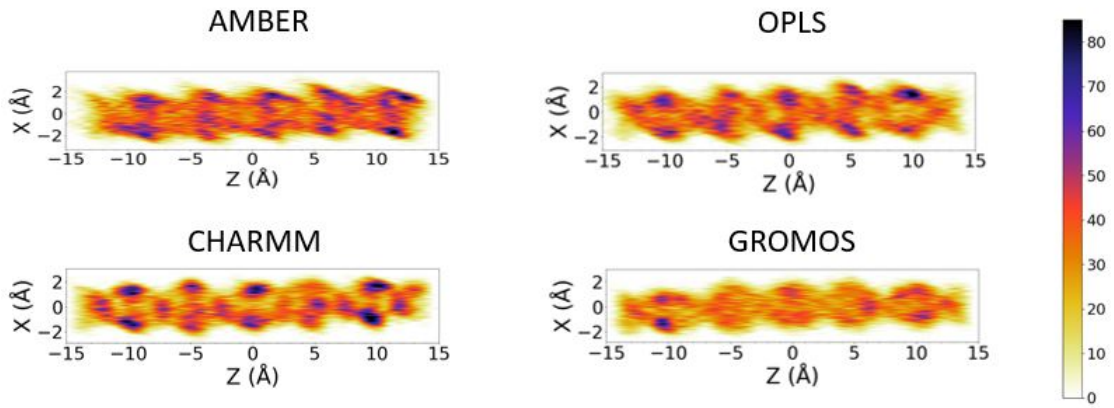


Figura 17: Distribución de densidad en 2D en el plano ZX de la posición de las moléculas de agua a lo largo de los últimos 220ns de trayectoria, representadas mediante un mapa de gradientes (naranja-azul). Solo se considera la región entre los 6 CPs del interior. Las unidades de la barra son: N^oMoléculas agua/pixel².

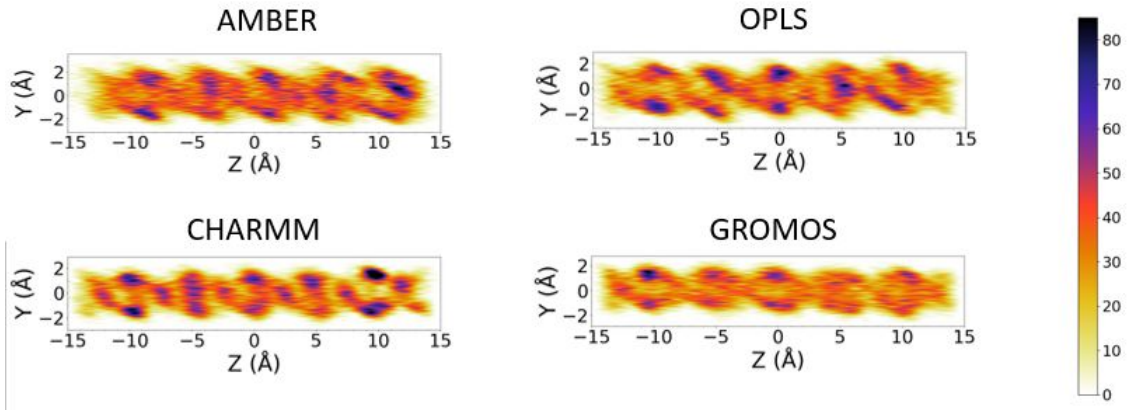


Figura 18: Distribución de densidad en 2D en el plano ZY de la posición de las moléculas de agua a lo largo de los últimos 220ns de trayectoria, representadas mediante un mapa de gradientes (naranja-azul). Solo se considera la región entre los 6 CPs del interior. Las unidades de la barra son: N^oMoléculas agua/pixel².

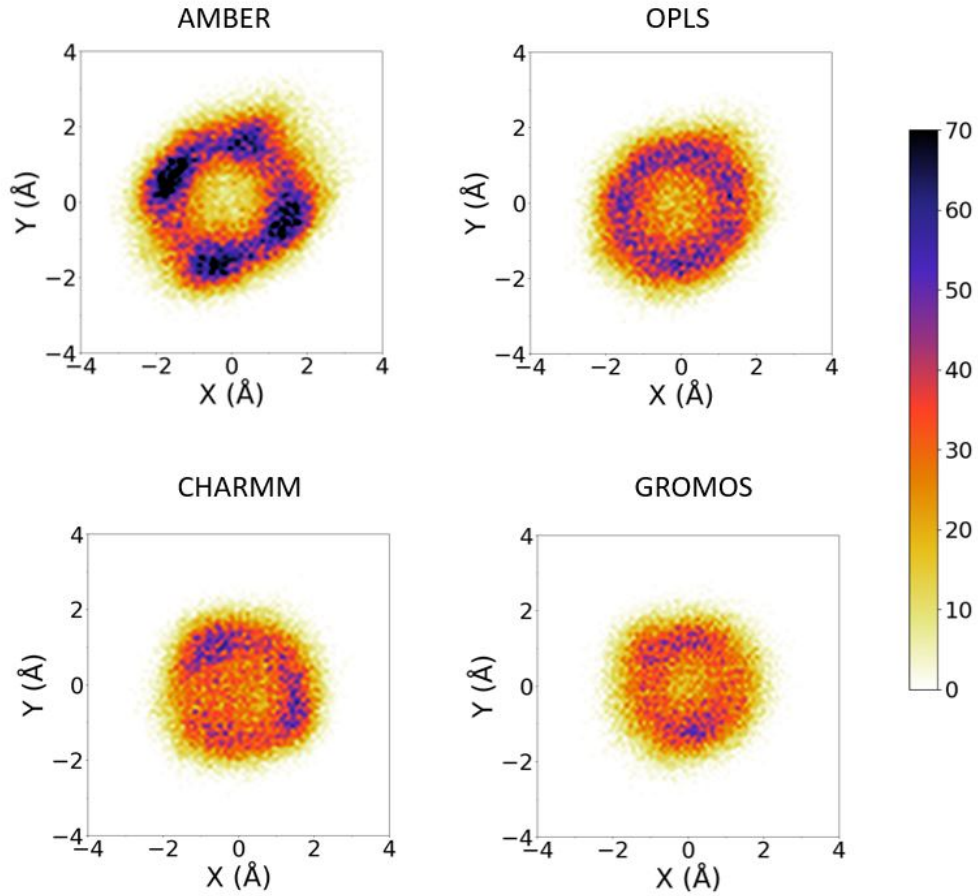


Figura 19: Distribución de densidad en 2D en el plano XY de la posición de las moléculas de agua a lo largo de los últimos 220ns de trayectoria, representadas mediante un mapa de gradientes (naranja-azul). Solo se considera la región entre los 6 CPs del interior. Las unidades de la barra son: N^oMoléculas agua/pixel².

4.3. Influencia del campo de fuerzas en las propiedades de difusión del *D,L*- α -SCPN.

Además del efecto en las propiedades estructurales del SCPN y del interior del canal, se ha evaluado cómo afectan los diferentes campos de fuerza a la difusión del SCPN, estudiando el grado de inclinación del nanotubo y los perfiles de difusión lateral.

4.3.1. Inclínación del nanotubo en la membrana (*tilt*).

Partiendo de los planos definidos para cada CP en las **secciones 4.1.3 y 4.1.4**, se calculó el ángulo que forma el nanotubo respecto al vector perpendicular a la membrana (**Fig. 21**). Sea \vec{z} el vector perpendicular a la superficie de la membrana y \vec{n} el vector normal del plano del CP (**Fig. 20**), entonces el ángulo (φ) que forman estos dos vectores se obtiene por:

$$\cos(\varphi) = \frac{\vec{z} \cdot \vec{n}}{\|\vec{z}\| \|\vec{n}\|} \quad (13)$$

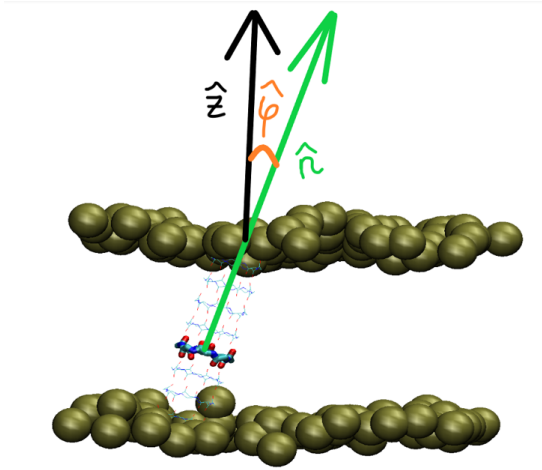


Figura 20: Representación gráfica del ángulo de inclinación del nanotubo respecto al vector normal a la membrana (*tilt*).

La inclinación del nanotubo respecto a la membrana, calculada a lo largo de toda la trayectoria muestra una evolución significativa hasta alcanzar valores razonablemente estables, aproximadamente después de 100 ns (**Fig. 21**). Incluso a partir de este punto de la simulación, es posible observar alguna fluctuación importante, principalmente para la simulación con OPLS. Además, también es de destacar que el comportamiento es muy similar pa-

ra todos los CPs, como puede deducirse de los sombreados representados en la (**Fig. 21**), correspondientes a los valores máximos y mínimos alcanzados por alguno de los CPs.

Por otro lado, se ha realizado un análisis de componentes principales (PCA) con el fin de evaluar si la inclinación de las diferentes subunidades constituye un movimiento coordinado o no, es decir, si la inclinación de un único CP es suficiente para explicar la inclinación del SCPN como un todo. Para tal fin, se debe realizar la matriz de covarianza de nuestra variable (ángulo de inclinación de cada CP):⁷¹

$$\begin{pmatrix} Var(\varphi_1) & Cov(\varphi_1, \varphi_2) & \cdots & Cov(\varphi_1, \varphi_n) \\ Cov(\varphi_2, \varphi_1) & Var(\varphi_2) & \cdots & Cov(\varphi_2, \varphi_n) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Cov(\varphi_n, \varphi_1) & Cov(\varphi_n, \varphi_2) & \cdots & Var(\varphi_n) \end{pmatrix} \quad (14)$$

donde:

$$Cov(\varphi_j, \varphi_k) = \frac{1}{(p-1)} \sum_{i=1}^p (\varphi_j^i - \bar{\varphi}_j)(\varphi_k^i - \bar{\varphi}_k); \quad Var(\varphi_j) = Cov(\varphi_j, \varphi_j) \quad (15)$$

Siendo p los pares de observaciones independientes y simultáneas, φ_j es el ángulo que forma el vector normal del CP j -ésimo respecto a la membrana mientras que $\bar{\varphi}_j$ representa su valor medio a lo largo de la trayectoria.

La diagonalización de esta matriz permite obtener los componentes principales de una serie de datos. Estas son unas nuevas variables que se han construido como una combinación lineal de las variables iniciales, de tal forma que no estén correlacionadas. La mayor parte de la información dentro de las variables iniciales se comprime en los primeros componentes. De esta forma, cuanto menor sea el número de componentes necesarias para albergar la mayor información (esto es una mayor varianza acumulada) sobre el ángulo de inclinación de cada CP, más coordinado será el movimiento del SCPN.

En resumen, partiendo de los ángulos que forma el vector normal de cada CP con la perpendicular a la membrana, se crea la matriz de covarianza, la cuál expresa el grado de correlación de la inclinación entre cada par de CPs. Posteriormente, se procede a la diagonalización de dicha matriz,⁷⁴ esto permite obtener el número de variables (no correlacionadas) necesarias para explicar el movimiento de nuestro SCPN como un todo a partir del movimiento de cada CP de forma individual.

Los resultados sugieren que únicamente es necesaria una componente principal, para explicar más del 90 % de la inclinación del SCPN en todos los campos de fuerzas, lo que indica un movimiento altamente coordinado entre todos los CPs, que concuerda con la gráfica de la inclinación pues hay escasas diferencias entre los valores extremos máximo-

mínimo del conjunto de CPs. El campo de fuerzas de GROMOS presenta el menor ángulo de inclinación a partir de los 150 ns, y a su vez es el que presenta un movimiento con peor coordinación respecto al resto de campos fuerzas (con una única componente principal explica $\sim 92\%$ de la inclinación del SCPN). En el lado opuesto está OPLS, que presenta la mayor inclinación en gran parte de la trayectoria, siendo asimismo el que muestra un mayor movimiento coordinado entre CPs con $\sim 96.5\%$ de información descrita en la primera componente principal.

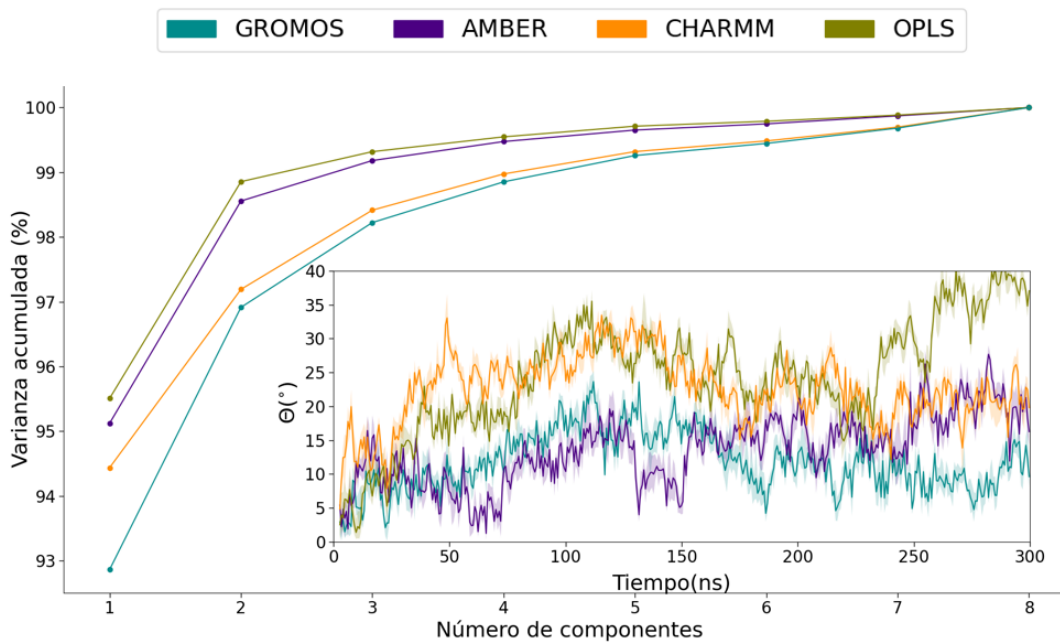


Figura 21: Análisis PCA de la inclinación del SCPN para los distintos campos de fuerzas. A su vez se ha representado, en la gráfica insertada, la media del ángulo de inclinación de todos los CPs para cada campo de fuerzas. La parte sombreada indica los valores extremos que presenta el CP con mayor/menor inclinación en cada instante de tiempo.

4.3.2. Perfiles de difusión lateral.

Se ha estudiado el desplazamiento lateral del SCPN, donde se han representado las distribuciones de probabilidad para diversas ventanas de tiempo. Las distintas ventanas de tiempo indican cada cuanto tiempo se ha calculado la distancia respecto a la posición anterior, por lo que a mayores ventanas de tiempo el desplazamiento es más grande, pues se pasa de medir la distancia cada 2 ns a cada 10 ns, es decir, el SCPN tuvo un mayor

4.3 Influencia del campo de fuerzas en las propiedades de difusión del *D,L*- α -SCPN.

tiempo para difundir.

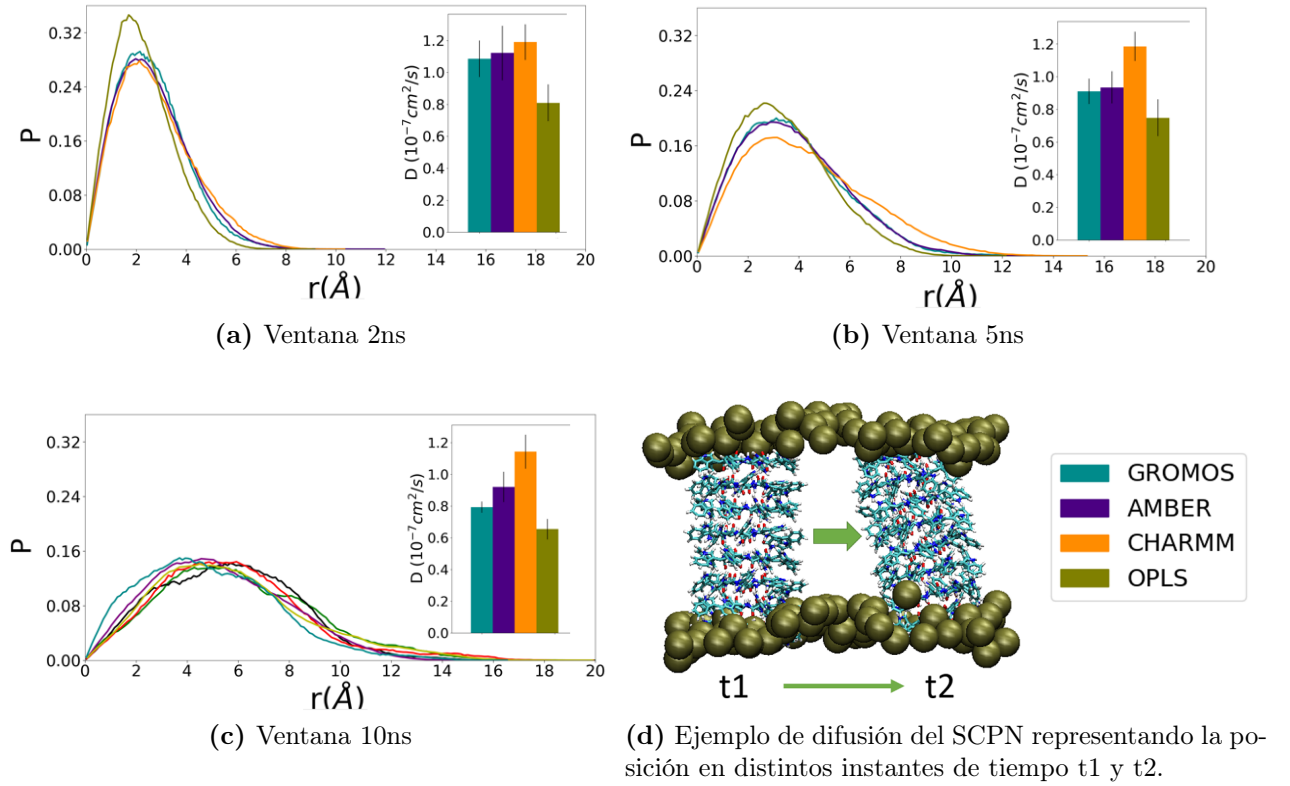


Figura 22: Probabilidad de desplazamiento para el SCPN en diferentes ventanas de tiempo para los distintos campos de fuerza. En el interior se representan los valores de los coeficientes de difusión para cada ventana de tiempo con su incertidumbre.

Para la obtención de los resultados se ha empleado la metodología descrita en el trabajo de R. García-Fandino et al. (2016).⁷⁵ Una vez terminada la simulación se obtiene una distribución de las frecuencias (normalizada) de cuán probable es que el SCPN se mueva una distancia x , en la ventana de tiempo dada (**Fig.22**). Se puede observar que las curvas obtenidas siguen una distribución Rayleigh, por lo que pueden ser ajustadas a la ecuación de desplazamiento aleatorio bidimensional conduciendo a los coeficientes de difusión lateral:

$$P(r, \Delta t) = \frac{r}{2D\Delta t} \exp\left(-\frac{r^2}{4D\Delta t}\right) \quad (16)$$

donde r es el desplazamiento lateral y D el coeficiente de difusión lateral. Se puede

observar que $\langle r^2 \rangle \sim D$, lo cuál es típico de un fenómeno de difusión.⁷⁶ Los resultados sugieren un comportamiento similar para los campos de fuerzas de GROMOS, AMBER y CHARMM. Sin embargo, se observa un comportamiento ligeramente diferente para OPLS, donde el SCPN difunde más lentamente.

5. Conclusiones.

En este trabajo se ha llevado a cabo una comparación crítica de la influencia de diferentes campos de fuerza clásicos (AMBER, CHARMM, OPLS y GROMOS, desarrollados para péptidos y proteínas lineales), en la simulación de MD de un canal transmembrana formado por péptidos cíclicos c-[(L-Trp-D-Trp)-₄]. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto varias diferencias significativas en las propiedades simuladas de estos sistemas, dependiendo del campo de fuerzas empleado. Las más relevantes son las relacionadas con el tamaño de la cavidad cilíndrica y cómo afecta a la disposición del agua confinada dentro del poro, así como con la difusión lateral que experimenta el SCPN a lo largo de las simulaciones. Así, se observó que el diámetro de la cavidad cilíndrica era mayor para la simulación usando AMBER y menor para la simulación usando CHARMM, mientras que OPLS y GROMOS exhiben un tamaño de cavidad similar. El número medio de moléculas de agua que se encuentran dentro del nanoporo también fue muy distinto para los diferentes campos de fuerza. El nanoporo simulado con AMBER alberga aproximadamente 31 moléculas de disolvente, mientras que los simulados con OPLS, CHARMM y GROMOS contienen ~ 27 , ~ 25 y ~ 21 aguas, respectivamente. Esta variación es muy importante ya que se espera que afecte seriamente las propiedades de transporte del canal. Además del diámetro de la cavidad y el número de moléculas de agua alojadas, la difusión lateral del nanotubo también es diferente para los diferentes campos de fuerza estudiados. El coeficiente de difusión lateral más rápido se encontró para CHARMM mientras que el más lento se observó para la simulación con OPLS. GROMOS y AMBER exhiben coeficientes de difusión lateral similares. Los resultados fueron mucho más semejantes para otras propiedades como el ángulo de inclinación del SCPN, los movimientos coordinados de los CP y las diferentes contribuciones de los enlaces H. También se observó una diferencia

significativa en el ángulo entre el C α y el plano del anillo del CP. Las simulaciones con GROMOS mostraron los ángulos más bajos mientras que los más grandes se observaron para las simulaciones con OPLS. Las diferencias en estos ángulos parecen muy pequeñas, pero podrían contribuir a cambios en diferentes propiedades estructurales o dinámicas. Estos resultados constituyen el primer acercamiento hacia la validación de campos de fuerza clásicos en las simulaciones MD de CPs que forman SCPNs, señalando cuáles son las mejores propiedades experimentales que podrían ser útiles para validar los diferentes modelos. Los resultados de este trabajo han sido incluidos en la siguiente publicación: D. Conde, Pablo F. Garrido, M. Calvelo, Á. Piñeiro, R. Garcia-Fandino, "Molecular dynamics simulations of transmembrane cyclic peptide nanotubes using classical force fields, Hydrogen Mass Repartitioning and Hydrogen Isotope Exchange methods: a critical comparison", enviado a *J. Chem. Theory Comput.* (2021), Manuscript ct-2021-00624s

Neste traballo realizouse unha comparación crítica da influencia de diferentes campos de forza clásicos (AMBER, CHARMM, OPLS e GROMOS, desenvolto para péptidos e proteínas lineais), nas simulacións de MD dunha canle transmembrana formado por péptidos cíclicos c - [(L-Trp - D-Trp -) ₄]. Os resultados obtidos poñen de manifesto varias diferenzas significativas nas propiedades simuladas destes sistemas, dependendo do campo de forzas empregado. As máis relevantes son as relacionadas co tamaño da cavidade cilíndrica e como afecta a disposición da auga confinada no interior do poro, así coma a difusión lateral que experimenta o SCPN ao longo das simulacións. Observouse que o diámetro da cavidade cilíndrica era maior para a simulación de AMBER e menor coa simulación empregando CHARMM, exhibindo OPLS e GROMOS un tamaño de cavidade similar. O número medio de moléculas de auga que se atopan no interior do nanoporo tamén foi diferente para os distintos campos de forzas. O nanoporo simulado con AMBER alberga aproximadamente 31 moléculas de disolvente, mentres que os simulados con OPLS, CHARMM e GROMOS conteñen ~ 27 , ~ 25 e ~ 21 augas, respectivamente. Esta variación é moi importante xa que se espera que afecte seriamente ás propiedades de transporte da canle. Ademais do diámetro da cavidade e do número de moléculas de auga aloxadas, a difusión lateral do nanotubo tamén é diferente para os distintos campos de forzas estudados. O coeficiente de difusión lateral máis rápido atopouse para CHARMM

mentres que o máis lento observouse na simulación de OPLS. GROMOS e AMBER presentan coeficientes de difusión lateral similares. Os resultados foron moito máis próximos para outras propiedades como o ángulo de inclinación do SCPN, os movementos coordinados dos CPs e as diferentes contribucións dos enlaces H. Tamén se observou unha diferenza significativa no ángulo entre o $C\alpha$ e o plano do CP. As simulacións de GROMOS mostraron os ángulos máis baixos, mentres que os máis grandes observáronse para as simulacións de OPLS. As diferenzas nestes ángulos parecen moi pequenas, pero poden contribuír a cambios nas diferentes propiedades estruturais ou dinámicas. Estes resultados constitúen o primeiro enfoque cara á validación de campos de forza clásicos nas simulacións de MD con CP que forman un SCPN, indicando cales son as mellores propiedades experimentais que poderían ser útiles para validar os diferentes modelos. Os resultados deste traballo incluíronse na seguinte publicación: D. Conde, Pablo F. Garrido, M. Calvelo, Á. Piñeiro, R. Garcia-Fandino, "Molecular dynamics simulations of transmembrane cyclic peptide nanotubes using classical force fields, Hydrogen Mass Repartitioning and Hydrogen Isotope Exchange methods: a critical comparison", enviado a *J. Chem. Theory Comput.* (2021), Manuscript ct-2021-00624s

In this work, a critical comparison of the influence of different classical force fields have done (AMBER, CHARMM, OPLS and GROMOS, developed for linear peptides and proteins), in the MD simulation of a transmembrane channel formed by cyclic peptides $c - [(L-Trp - D-Trp -)_4]$. The results obtained reveal several significant differences in the simulated properties of these systems, depending on the force field used. The most relevant are those related to the size of the cylindrical cavity and how it affects to the disposition of the water confined within the pore, as well as the lateral diffusion that the SCPN experiences throughout the simulations. It was observed that the diameter of the cylindrical cavity was larger for the simulation using AMBER and smaller for the simulation using CHARMM, while OPLS and GROMOS exhibit a similar cavity size. The average number of water molecules found within the nanopore was also very different for the different force fields. The AMBER simulated nanopore contains approximately 31 solvent molecules, while the OPLS, CHARMM, and GROMOS simulated nanopore contains ~ 27 , ~ 25 , and ~ 21 water molecules, respectively. This variation is very important

as it is expected to seriously affect the transport properties of the channel. In addition to the diameter of the cavity and the number of water molecules contained, the lateral diffusion of the nanotube is also different for the different force fields studied. The fastest lateral diffusion coefficient was found for CHARMM while the slowest was observed for the OPLS simulation. GROMOS and AMBER exhibit similar lateral diffusion coefficients. The results were much more similar for other properties such as the angle of inclination of the SCPN, the coordinated movements of the CPs and the different contributions of the H bonds. A significant difference was also observed in the angle between the $C\alpha$ and the plane of the ring of the CP. The GROMOS simulations showed the lowest angles while the largest were observed for the OPLS simulations. The differences in these angles appear very small, but could contribute to changes in different structural or dynamic properties. These results constitute the first approach to the validation of classical force fields in the MD simulations of CPs that form SCPNs, indicating which are the best experimental properties that could be useful to validate the different models. The results of this work have been included in the following publication: D. Conde, Pablo F. Garrido, M. Calvelo, Á. Piñeiro, R. Garcia-Fandino, "Molecular dynamics simulations of transmembrane cyclic peptide nanotubes using classical force fields, Hydrogen Mass Repartitioning and Hydrogen Isotope Exchange methods: a critical comparison", sent to *J. Chem. Theory Comput.* (2021), Manuscript ct-2021-00624s

6. Bibliografía

- (1) McCammon, J. A.; Gelin, B. R.; Karplus, M. *Nature* **1977**, *267*, 585–590.
- (2) Gelpi, J.; Hospital, A.; Goñi, R.; Orozco, M. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry* **2015**, 37.
- (3) Schlick, T.; Portillo-Ledesma, S. *Nature Computational Science* **2021**, *1*, 321–331.
- (4) Moore, G. E. et al. Cramming more components onto integrated circuits, 1965.
- (5) Lesar, R., *Introduction to Computational Materials Science*; Cambridge University Press: 2018.

-
- (6) Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Khazanovich, N. *Nature* **1993**, *366*, 324–327.
- (7) Claro, B.; Bastos, M.; Garcia-Fandino, R. en *Peptide Applications in Biomedicine, Biotechnology and Bioengineering*; Elsevier: 2018, pp. 87–129.
- (8) Garcia-Fandiño, R.; Calvelo, M.; Granja, J. en *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*; Elsevier: 2017, pp. 539–573.
- (9) Santis, P. D.; Morosetti, S.; Rizzo, R. *Macromolecules* **1974**, *7*, 52–58.
- (10) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, *40*, 988–1011.
- (11) García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. en *Supramolecular Chemistry*; American Cancer Society: 2012.
- (12) Rodriguez-Vazquez, N.; Ozores, H.; Guerra, A.; Gonzalez-Freire, E.; Fuertes, A.; Panciera, M.; Priegue, J.; Outeiral, J.; Montenegro, J.; Garcia-Fandino, R.; Amorin, M.; Granja, J. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2015**, *14*, 2647–2661.
- (13) Rodriguez-Vázquez, N.; Amorin, M.; Granja, J. R. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2017**, *15*, 4490–4505.
- (14) Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Buehler, L. K. *Nature* **1994**, *369*, 301–304.
- (15) Zheng, S.-P.; Huang, L.-B.; Sun, Z.; Barboiu, M. *Angewandte Chemie International Edition* **2020**, *60*, 566–597.
- (16) Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116*, 10785–10786.
- (17) Fernandez-Lopez, S.; Kim, H.-S.; Choi, E. C.; Delgado, M.; Granja, J. R.; Khasanov, A.; Kraehenbuehl, K.; Long, G.; Weinberger, D. A.; Wilcoxon, K. M.; Ghadiri, M. R. *Nature* **2001**, *412*, 452–455.
- (18) Lynch, C. I.; Rao, S.; Sansom, M. S. P. *Chemical Reviews* **2020**, *120*, 10298–10335.
- (19) Dauber-Osguthorpe, P.; Hagler, A. T. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2018**, *33*, 133–203.

-
- (20) Lopes, P. E. M.; Guvench, O.; MacKerell, A. D. en *Methods in Molecular Biology*; Springer New York: 2014, pp. 47–71.
- (21) Rosenberger, D.; Smith, J. S.; Garcia, A. E. *The Journal of Physical Chemistry B* **2021**, *125*, 3598–3612.
- (22) Paissoni, C.; Nardelli, F.; Zanella, S.; Curnis, F.; Belvisi, L.; Musco, G.; Ghitti, M. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2018**, *20*, 15807–15816.
- (23) McHugh, S. M.; Rogers, J. R.; Solomon, S. A.; Yu, H.; Lin, Y.-S. *Current Opinion in Chemical Biology* **2016**, *34*, 95–102.
- (24) Yu, H.; Lin, Y.-S. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2015**, *17*, 4210–4219.
- (25) Lin, H.; Fan, J.; Weng, P.; Si, X.; Zhao, X. *The Journal of Physical Chemistry A* **2017**, *121*, 6863–6873.
- (26) Maroli, N.; Kolandaivel, P. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* **2019**, *38*, 186–199.
- (27) Tarek, M.; Maigret, B.; Chipot, C. *Biophysical Journal* **2003**, *85*, 2287–2298.
- (28) Hwang, H.; Schatz, G. C.; Ratner, M. A. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 26448–26460.
- (29) Liu, J.; Fan, J.; Tang, M.; Zhou, W. *The Journal of Physical Chemistry A* **2010**, *114*, 2376–2383.
- (30) Vijayaraj, R.; Damme, S. V.; Bultinck, P.; Subramanian, V. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14*, 15135.
- (31) Bertran, O.; Curcó, D.; Zanuy, D.; Alemán, C. *Faraday Discussions* **2013**, *166*, 59.
- (32) Vijayakumar, V.; Vijayaraj, R.; Peters, G. H. *Journal of Molecular Modeling* **2016**, *22*, DOI: 10.1007/s00894-016-3122-x.
- (33) Goldstein, H., *Classical mechanics*; Addison Wesley: San Francisco, 2002.
- (34) Chang, J.; Cai, W.; Bulatov, V. V.; Yip, S. *Computational materials science* **2002**, *23*, 111–115.
- (35) Dominguez, L.; Bedolla, C. A. *Educación Química* **2014**, *25*, 82–85.

-
- (36) Hinchliffe, A., *Molecular Modelling for Beginners*; John Wiley Sons: 2008.
- (37) Bueren-Calabuig, J. A. en; Zenodo: 2014.
- (38) Frechín, J., *Física del estado sólido*; Universidade de Santiago de Compostela, Servizo de Publicacións e Intercambio Científico: Santiago de Compostela, 2008.
- (39) Lindahl; , Abraham; Hess; Spoel, V. D. **2019**, DOI: 10.5281/ZENODO.3243834.
- (40) Gunsteren, W., *Biomolecular simulation : the GROMOS96 manual and user guide*; Biomos Vdf, Hochschulverlag AG an der ETH Zürich: Zürich Groningen Zürich, 1996.
- (41) Essmann, U.; Perera, L.; Berkowitz, M. L.; Darden, T.; Lee, H.; Pedersen, L. G. *The Journal of Chemical Physics* **1995**, *103*, 8577–8593.
- (42) Guvench, O.; MacKerell, A. D. en *Molecular Modeling of Proteins*, Kukol, A., ed.; Humana Press: Totowa, NJ, 2008, pp. 63–88.
- (43) *Scientific Modeling and Simulations*; Yip, S., de la Rubia, T. D., eds.; Springer Netherlands: 2009.
- (44) Silk, M. R.; Newman, J.; Ratcliffe, J. C.; White, J. F.; Caradoc-Davies, T.; Price, J. R.; Perrier, S.; Thompson, P. E.; Chalmers, D. K. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 6613–6616.
- (45) Kaminski, G. A.; Friesner, R. A.; Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L. *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, *105*, 6474–6487.
- (46) Jorgensen, W. L.; Maxwell, D. S.; Tirado-Rives, J. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 11225–11236.
- (47) Lindorff-Larsen, K.; Piana, S.; Palmo, K.; Maragakis, P.; Klepeis, J. L.; Dror, R. O.; Shaw, D. E. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* **2010**, *78*, 1950–1958.
- (48) Schmid, N.; Eichenberger, A. P.; Choutko, A.; Riniker, S.; Winger, M.; Mark, A. E.; van Gunsteren, W. F. *European Biophysics Journal* **2011**, *40*, 843–856.
- (49) Huang, J.; Rauscher, S.; Nawrocki, G.; Ran, T.; Feig, M.; de Groot, B. L.; Grubmüller, H.; MacKerell, A. D. *Nature Methods* **2016**, *14*, 71–73.

-
- (50) Jorgensen, W. L.; Madura, J. D. *Journal of the American Chemical Society* **1983**, *105*, 1407–1413.
- (51) Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W.; Klein, M. L. *The Journal of Chemical Physics* **1983**, *79*, 926–935.
- (52) Berendsen, H. J. C.; Postma, J. P. M.; van Gunsteren, W. F.; Hermans, J. en *The Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry*; Springer Netherlands: 1981, pp. 331–342.
- (53) Domański, J.; Stansfeld, P. J.; Sansom, M. S. P.; Beckstein, O. *The Journal of Membrane Biology* **2010**, *236*, 255–258.
- (54) Poger, D.; Gunsteren, W. F. V.; Mark, A. E. *Journal of Computational Chemistry* **2009**, *31*, 1117–1125.
- (55) Klauda, J. B.; Venable, R. M.; Freites, J. A.; O’Connor, J. W.; Tobias, D. J.; Mondragon-Ramirez, C.; Vorobyov, I.; MacKerell, A. D.; Pastor, R. W. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 7830–7843.
- (56) Nencini, R. Simulation Data For Charmm36 Popc Bilayer, 100 Lipids/Leaflet, 310K, Gromacs 5.1.4, 2018.
- (57) Girych Mykhailo; Ollila O. H. Samuli Popc_Ulmschneider_Opls_{Nacl}₀15Mol, 2015.
- (58) Ulmschneider, J. P.; Ulmschneider, M. B. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2009**, *5*, 1803–1813.
- (59) Parrinello, M.; Rahman, A. *Journal of Applied Physics* **1981**, *52*, 7182–7190.
- (60) Bussi, G.; Donadio, D.; Parrinello, M. *The Journal of Chemical Physics* **2007**, *126*, 014101.
- (61) Hess, B. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2007**, *4*, 116–122.
- (62) Klesse, G.; Rao, S.; Sansom, M. S.; Tucker, S. J. *Journal of Molecular Biology* **2019**, *431*, 3353–3365.
- (63) Van Rossum, G.; Drake, F. L., *Python 3 Reference Manual*; CreateSpace: Scotts Valley, CA, 2009.

-
- (64) Michaud-Agrawal, N.; Denning, E. J.; Woolf, T. B.; Beckstein, O. *Journal of Computational Chemistry* **2011**, *32*, 2319–2327.
- (65) Gowers, R.; Linke, M.; Barnoud, J.; Reddy, T.; Melo, M.; Seyler, S.; Domański, J.; Dotson, D.; Buchoux, S.; Kenney, I.; Beckstein, O. en *Proceedings of the 15th Python in Science Conference*, SciPy: 2016.
- (66) Harris, C. R. et al. *Nature* **2020**, *585*, 357–362.
- (67) McKinney, W. en *Proceedings of the 9th Python in Science Conference*, SciPy: 2010.
- (68) Hunter, J. D. *Computing in Science & Engineering* **2007**, *9*, 90–95.
- (69) Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. *Journal of Molecular Graphics* **1996**, *14*, 33–38.
- (70) Flyvbjerg, H.; Petersen, H. G. *The Journal of Chemical Physics* **1989**, *91*, 461–466.
- (71) Cabo, L., *Tratamiento de datos físicos*; Universidade de Santiago de Compostela: Santiago de compostela, 2010.
- (72) Tukey, J., *Exploratory data analysis*; Addison-Wesley Pub. Co: Reading, Mass, 1977.
- (73) Tiangtrong, P.; Thamwattana, N.; Baowan, D. *Applied Nanoscience* **2015**, *6*, 345–357.
- (74) Iez, L., *Álgebra lineal con métodos elementales*; Thomson-Paraninfo: Madrid, 2006.
- (75) Garcia-Fandiño, R.; Piñeiro, Á.; Trick, J. L.; Sansom, M. S. P. *ACS Nano* **2016**, *10*, 3693–3701.
- (76) Lemons, D. S., *An Introduction to Stochastic Processes in Physics: Containing "On the Theory of Brownian Motion" by Paul Langevin, Translated by Anthony Gythiel*; JOHNS HOPKINS UNIV PR: 2002.

A. Anexo: Ciencia por amor al arte.

“The greatest scientists are artists as well,” Albert Einstein

Uno de los objetivos de la ciencia en general y de la química en particular se basa en una apropiada y atractiva presentación de los resultados. Dicha presentación ha de propiciar en el lector la sensación de que sus conocimientos acerca del mundo se están incrementando mientras que se aumenta, a su vez, la curiosidad hacia el tema de estudio. Esta manera de trasladar el conocimiento científico a la población general supone que el interlocutor se muestre interesado en lo que está siendo expuesto, viéndolo accesible. Es relevante destacar que, para que la ciencia llegue a miembros de la sociedad que pueden no estar tan familiarizados con los términos o jerga científica ha de exponerse un contenido asequible y adaptable al público al que se quiere llegar, y así lograr que la ciencia sea vista como una rama de conocimiento que si bien compleja y estructurada, es accesible a todo aquel que se quiera adentrar en sus profundidades. Gracias a esto también se puede conseguir que las personas jóvenes se muestren interesadas en ámbitos científicos como las matemáticas, la física o la química y que quieran ejercer en ello en un futuro.

Durante el desarrollo de este TFG, además de llevar a cabo la investigación expuesta en esta memoria, he participado en varias actividades relacionadas con la divulgación de los resultados, dentro de las líneas de investigación del grupo:



Figura 23: Captura del nanotubo empleado en el trabajo, visto mediante la aplicación NanoTubarAR.

1. Las estructuras del SCPN generadas y estudiadas en este trabajo se utilizaron para el desarrollo y la validación de NanoTubarAR¹ (**Fig. 23**), una aplicación que permite visualizar, utilizando la tecnología de Realidad Aumentada, cuatro tipos de nanotubos: un nanotubo de carbono y tres nanotubos formados por péptidos cíclicos, con la intención subyacente de que la población se pueda acercar y

visualizar estos péptidos cíclicos. Con NanoTubarAR es posible obtener una visión privile-

¹MDUSE INNOVATIONS. (2021). *NanoTubarAR* (1.0) [Aplicación móvil]. Google Play. <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.MD.use.NanoTubarAR&hl=es&gl=US>

giada de estos sistemas en nuestra propia casa, o en cualquier parte a partir de una simple textura, caminar a su alrededor, e incluso introducirnos en su cavidad interior para poder observar en detalle su estructura interior a un nivel de detalle atómico

2. La elaboración de un artículo de revisión en el área del COVID-19: P. F. Garrido, M. Calvelo, A. Blanco-González, U. Veleiro, F. Suárez, D. Conde, A. Cabezón, Á. Piñeiro, R. Garcia-Fandino, The Lord of the NanoRings: Cyclodextrins and the battle against SARS-CoV-2, Int J Pharm. 2020 Oct 15; 588: 119689; El formato de este artículo, utilizando el símil de la trilogía de *El Señor de los Anillos* para describir unas moléculas cíclicas con aplicación en el COVID-19, las ciclodextrinas ha despertado bastante atención(**Fig. 24**)² en redes sociales y en el público en general.



Figura 24: Ejemplo de la repercusión del artículo de revisión en el periódico *El Salto*.

²Quian, A. (19 de Agosto 2020). Ciclodextrina: la conexión entre 'El Señor de los Anillos' y la pandemia de covid-19. *El Salto*. <https://www.elsaltodiario.com/coronavirus/ciclodextrina-conexion-senor-anillos-pandemia-covid19>